

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
15. Februar 2001 (15.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/10845 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 241/08,  
C07K 5/02, C07D 487/14, A61K 31/495, A61P 11/00,  
C07D 401/12

Gauting (DE). SOMMERHOFF, Christian [DE/DE];  
Thomassstrasse 7, D-81924 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/07707

(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9,  
D-81679 München (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:  
8. August 2000 (08.08.2000)

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 37 721.9 10. August 1999 (10.08.1999) DE

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-  
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,  
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US*): MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR  
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.  
[DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, D-80539 München (DE).  
BYK GULDEN LOMBERG CHEMISCHE FABRIK  
GMBH [DE/DE]; Byk-Gulden-Strasse 2, D-78487 Kon-  
stanz (DE).

**Veröffentlicht:**

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden  
Frist: Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen  
eintreffen.

(72) Erfinder; und

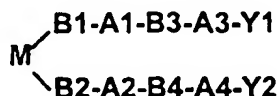
(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): SCHASCHKE, Nor-  
bert [DE/DE]; Hansastrasse 101, D-81373 München (DE).  
MORODER, Luis [DE/DE]; Alexander-Fleming-Strasse  
10 D, D-82152 Martinsried (DE). HUBER, Robert  
[DE/DE]; Schlesierstrasse 13, D-82110 Germering (DE).  
BODE, Wolfram [DE/DE]; Tulpenstrasse 5, D-82131

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 01/10845 A1

(54) Title: NOVEL DIKETOPIPERAZINES

(54) Bezeichnung: NEUE DIKETOPIPERAZINE



(I)

(57) Abstract: This invention relates to compounds of for-  
mula (I) wherein M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, Y1  
and Y2 have the meanings cited in the description. Said com-  
pounds are novel, effective tryptase-inhibitors.

(57) Zusammenfassung: Verbindungen der Formel (I), wor-  
in M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4, Y1 und Y2 die in  
der Beschreibung angegebenen Bedeutungen haben, sind neue wirksame Tryptase-Inhibitoren.

## Neue Diketopiperazine

### Anwendung der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue Diketopiperazine, die in der pharmazeutischen Industrie zur Herstellung von Medikamenten verwendet werden.

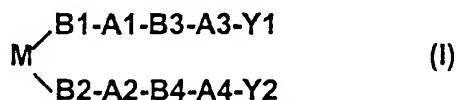
### Bekannter technischer Hintergrund

In den internationalen Anmeldungen WO95/32945, WO96/09297, WO98/04537, WO99/40073, WO99/40083, WO99/12918, WO99/24395, WO99/24407 und WO00/14097 werden niedermolekulare Verbindungen als Tryptaseinhibitoren beschrieben.

### Beschreibung der Erfindung

Es wurde nun gefunden, daß die nachfolgend näher beschriebenen Verbindungen der Formel I überraschende und besonders vorteilhafte Eigenschaften besitzen.

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I



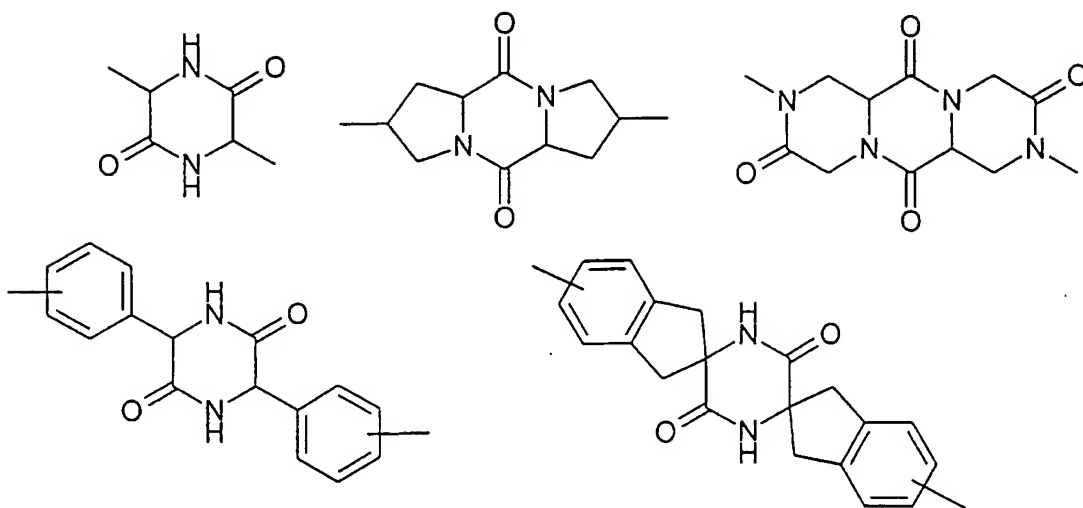
worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -S- (Schwefel), -S(O)<sub>2</sub>-NH-, -NH-S(O)<sub>2</sub>-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -C(S)-NH-, -NH-C(S)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-NH-, -NH-S(O)<sub>2</sub>- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

-2-

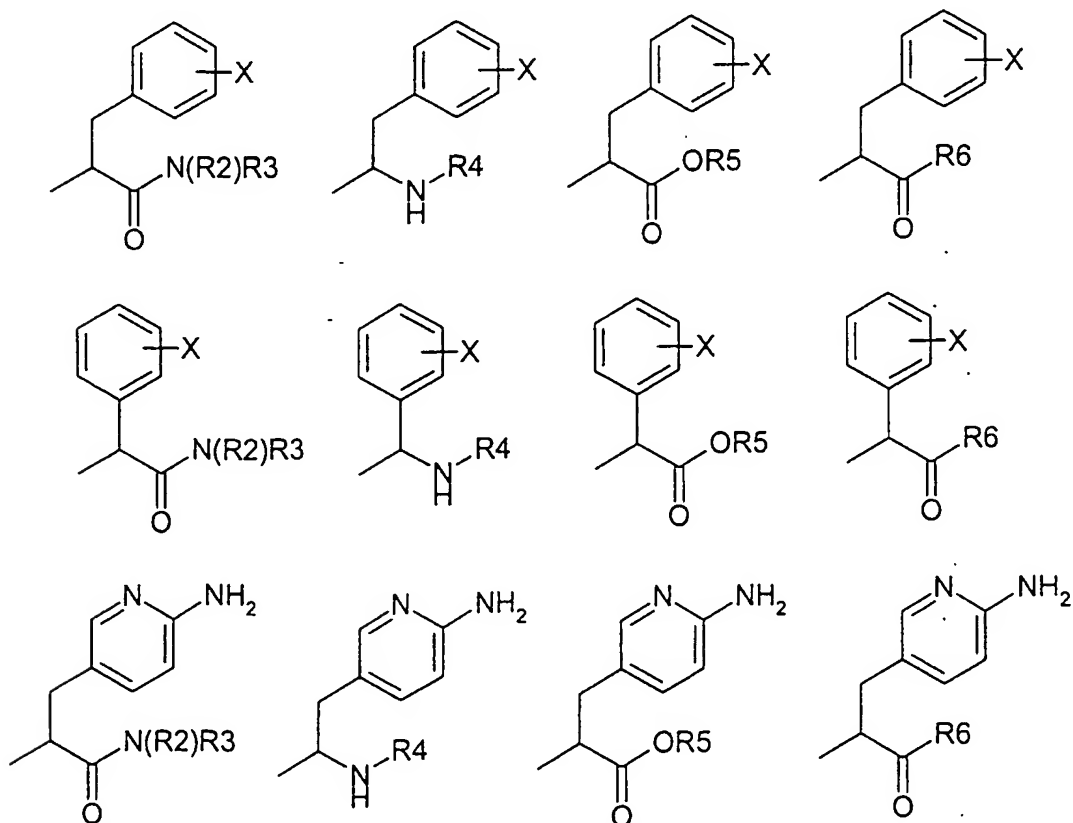


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

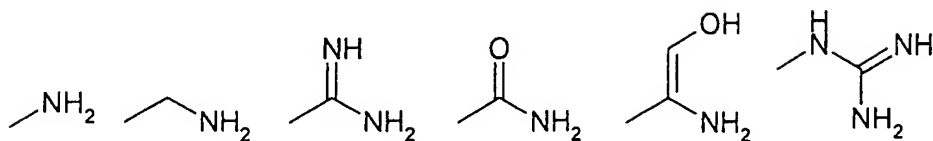
B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung, 1-4C-Alkylen oder -C(R11)R12- bedeuten, wobei R11 und R12 zusammen und unter Einschluß des Kohlenstoffatoms an das beide gebunden sind, einen spiro-verknüpften 3-, 4-, 5- oder 6-gliedrigen gesättigten Kohlenwasserstoffring darstellen,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



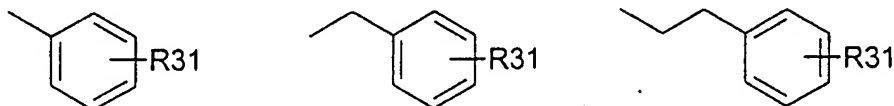
wobei

X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen

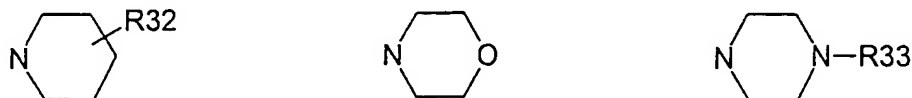


R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



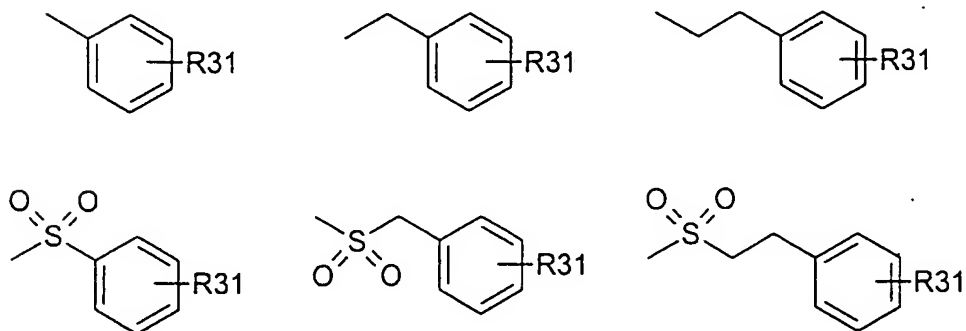
wobei

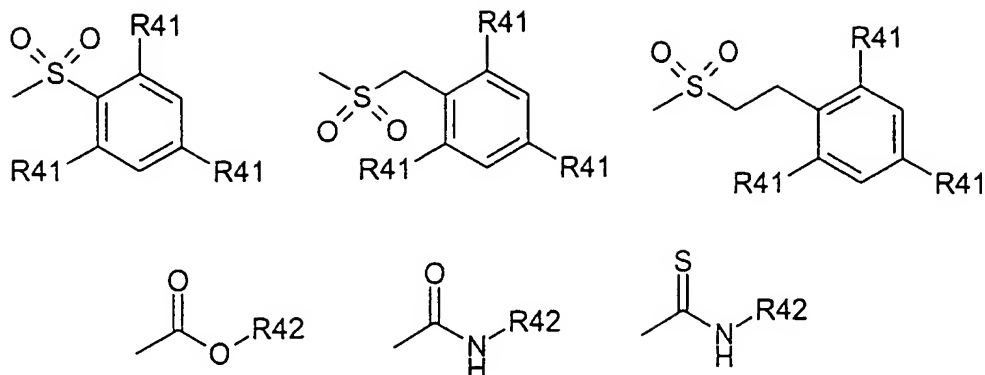
R31 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder 1-4C-Alkoxy bedeutet,

R32 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxycarbonyl, Phenyl-1-4C-alkoxycarbonyl, Carboxyl, Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonyl und

R33 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl oder Hydroxymethylcarbonyl bedeuten,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



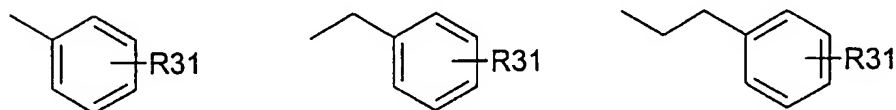


wobei

R41 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl, und

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

R5 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



R6 Wasserstoff, -C(O)-OR61 oder -C(O)-NHR61 bedeutet, wobei

R61 1-4C-Alkyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome, zweier Carbonylgruppen oder zweier Sulfonylgruppen kommen würde.

1-4C-Alkylen steht für geradkettige oder verzweigte 1-4C-Alkylenreste, beispielsweise den Methylen- (-CH<sub>2</sub>-), Ethylen- (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), Trimethylen- (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), Tetramethylen- (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 1,2-Dimethylethylen- [-CH(CH<sub>3</sub>)-CH(CH<sub>3</sub>)-], 1,1-Dimethylethylen- [-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-], 2,2-Dimethylethylen- [-CH<sub>2</sub>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-], Isopropyliden- [-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-] oder den 1-Methylethylenrest [-CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-].

Als spiro-verknüpfter 3-, 4-, 5- oder 6-gliedriger gesättigter Kohlenwasserstoffring sei der Cyclopropan-, der Cyclobutan-, der Cyclopentan- und der Cyclohexanring genannt.

1-4C-Alkyl steht für geradkettige oder verzweigte Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielsweise seien genannt der Butyl-, iso-Butyl-, sec.-Butyl-, tert.-Butyl-, Propyl-, Isopropyl-, Ethyl- und der Methylrest.

1-4C-Alkoxy steht für Reste, die neben dem Sauerstoffatom einen geradkettigen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen enthalten. Beispielsweise seien genannt der Butoxy-, iso-Butoxy-, sec.-Butoxy-, tert.-Butoxy-, Propoxy-, Isopropoxy- und bevorzugt der Ethoxy- und Methoxyrest.

1-4C-Alkoxy-carbonyl steht für eine Carbonylgruppe, an die einer der vorstehend genannten 1-4C-Alkoxyreste gebunden ist. Beispielsweise seien der Methoxycarbonyl-  $[\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(\text{O})-]$  und der Ethoxycarbonylrest  $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(\text{O})-]$  genannt.

Phenyl-1-4C-alkoxy-carbonyl steht für eine der vorstehend genannten 1-4C-Alkoxyreste, an die ein Phenylring gebunden ist. Beispielsweise sei der Benzyloxycarbonylrest genannt.

Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonylreste enthalten neben der Carbonylgruppe einen Mono- bzw. Di-1-4C-alkylaminorest. Beispielsweise genannt seien der N-Methyl-, der N,N-Dimethyl-, der N-Ethyl-, der N-Propyl-, der N,N-Diethyl- und der N-Isopropylaminocarbonylrest.

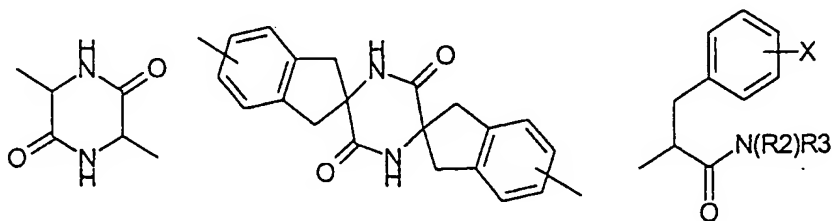
1-4C-Alkylsulfonyl steht für eine Sulfonylgruppe, an die einer der vorstehend genannten 1-4C-Alkylreste gebunden ist. Beispielsweise sei der Methylsulfonylrest ( $\text{CH}_3\text{SO}_2-$ ) genannt.

1-4C-Alkylcarbonyl steht für einen Rest, der neben der Carbonylgruppe einen der vorstehend genannten 1-4C-Alkylreste enthält. Beispielsweise sei der Acetylrest genannt.

Phenyl-1-4C-alkyl steht für einen der oben genannten, durch Phenyl substituierten 1-4C-Alkylreste. Beispielsweise seien der Phenethyl- und der Benzylrest genannt.

Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl steht für einen Rest, der neben der Carbonylgruppe eine der vorstehend genannten Phenyl-1-4C-alkylreste enthält. Beispielsweise sei der Phenylacetylrest genannt.

Die Definitionen von M, Y1, Y2, X, R3, R4 und R5 enthalten chemische Formeln wie zum Beispiel

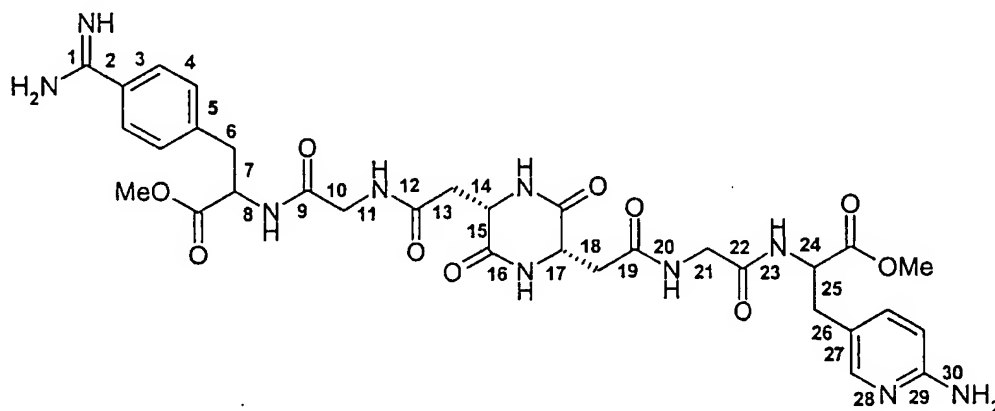


Einseitig nicht verknüpfte Bindungen bedeuten hierbei, daß der Baustein an dieser Stelle mit dem Rest des Moleküls verbunden ist. Zweiseitig nicht verknüpfte Bindungen bedeuten, daß es an diesem Baustein mehrere Stellen gibt, über die die Verbindung zum Rest des Moleküls erfolgen kann.

Mit dem Begriff terminales Stickstoffatom ist im Rahmen dieser Anmeldung jeweils ein Stickstoffatom in den mit Y1 und Y2 bezeichneten Gruppen gemeint. Das terminale Stickstoffatom ist dabei entweder eine endständige Aminogruppe des Substituenten X oder die Aminogruppe der 2-Amino-Pyrid-5-yl-gruppierung.

Erfindungsgemäß wird unter dem direkten Weg zwischen den Stickstoffatomen, die in den als Y1 oder Y2 definierten Gruppen als terminale Stickstoffatome fungieren, diejenige Anzahl von Bindungen angesehen, die durch Abzählen der Bindungen, die die kürzest mögliche Verbindungslinie zwischen den terminalen Stickstoffatomen darstellen, erhalten wird.

Folgendes Beispiel soll die Bestimmung der Anzahl der Bindungen auf dem direkten Weg zwischen zwei terminalen Stickstoffatomen verdeutlichen:



Der direkte Weg beinhaltet hier 30 Bindungen.

Als Salze kommen für Verbindungen der Formel I - je nach Substitution - alle Säureadditionssalze oder alle Salze mit Basen in Betracht. Besonders erwähnt seien die pharmakologisch verträglichen Salze der in der Galenik üblicherweise verwendeten anorganischen und organischen Säuren. Als solche eignen sich einerseits wasserlösliche und wasserunlösliche Säureadditionssalze mit Säuren wie beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Zitronensäure, D-Gluconsäure, Benzoesäure, 2-(4-Hydroxybenzoyl)-benzoesäure, Buttersäure, Sulfosalicylsäure, Maleinsäure, Laurinsäure, Äpfelsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure, Weinsäure, Embonsäure, Stearinsäure, Toluolsulfonsäure, Methansulfonsäure oder 3-Hydroxy-2-naphthoesäure, wobei die Säuren bei der Salzherstellung - je nachdem, ob es sich um eine ein- oder mehrbasige Säure handelt und je nachdem, welches Salz gewünscht wird - im äquimolaren oder einem davon abweichenden Mengenverhältnis eingesetzt werden.

Andererseits kommen auch Salze mit Basen in Betracht. Als Beispiele für Salze mit Basen seien Alkali- (Lithium-, Natrium-, Kalium-) oder Calcium-, Aluminium-, Magnesium-, Titan-, Ammonium-, Meglumin- oder Guanidiniumsalze erwähnt, wobei auch hier bei der Salzherstellung die Basen im äquimolaren oder einem davon abweichenden Mengenverhältnis eingesetzt werden.

Pharmakologisch unverträgliche Salze, die beispielsweise bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen im industriellen Maßstab als Verfahrensprodukte zunächst anfallen können, werden durch dem Fachmann bekannte Verfahren in pharmakologisch verträgliche Salze übergeführt.

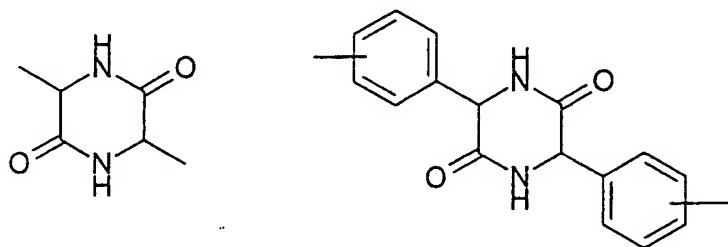
Dem Fachmann ist bekannt, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen als auch ihre Salze, wenn sie zum Beispiel in kristalliner Form isoliert werden, verschiedene Mengen an Lösungsmitteln enthalten können. Die Erfindung umfaßt daher auch alle Solvate und insbesondere alle Hydrate der Verbindungen der Formel I, sowie alle Solvate und insbesondere alle Hydrate der Salze der Verbindungen der Formel I.

Hervorzuhebende Verbindungen der Formel I sind solche, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

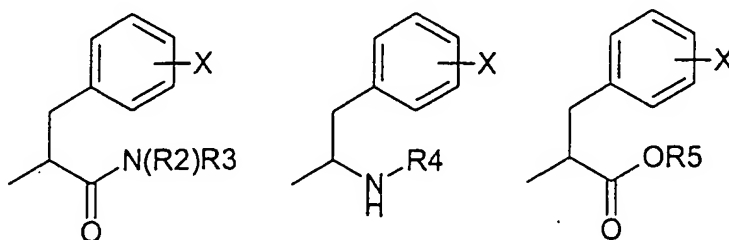


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

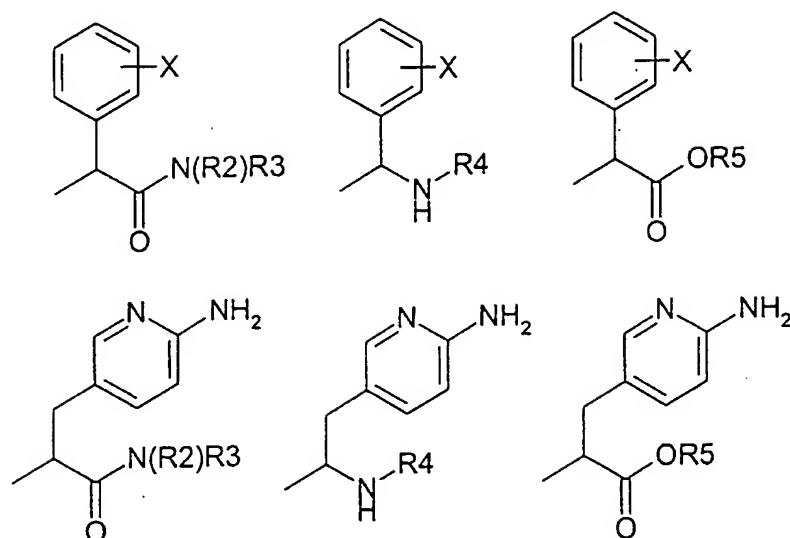
B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen

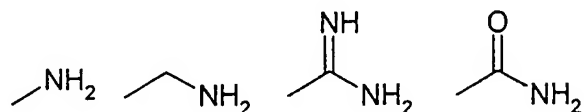






wobei

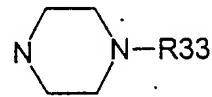
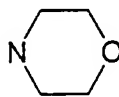
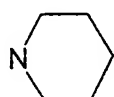
X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder Benzyl bedeutet,

oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

R33 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

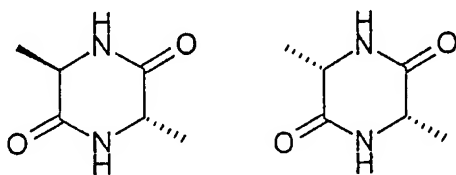
R4 1-4C-Alkylcarbonyl bedeutet,

R5 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,  
sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen

und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome oder zweier Carbonylgruppen kommen würde.

Besonders hervorzuhebende Verbindungen der Formel I sind solche, worin  
 A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NH-C(O)- bedeuten,  
 A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten,  
 M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

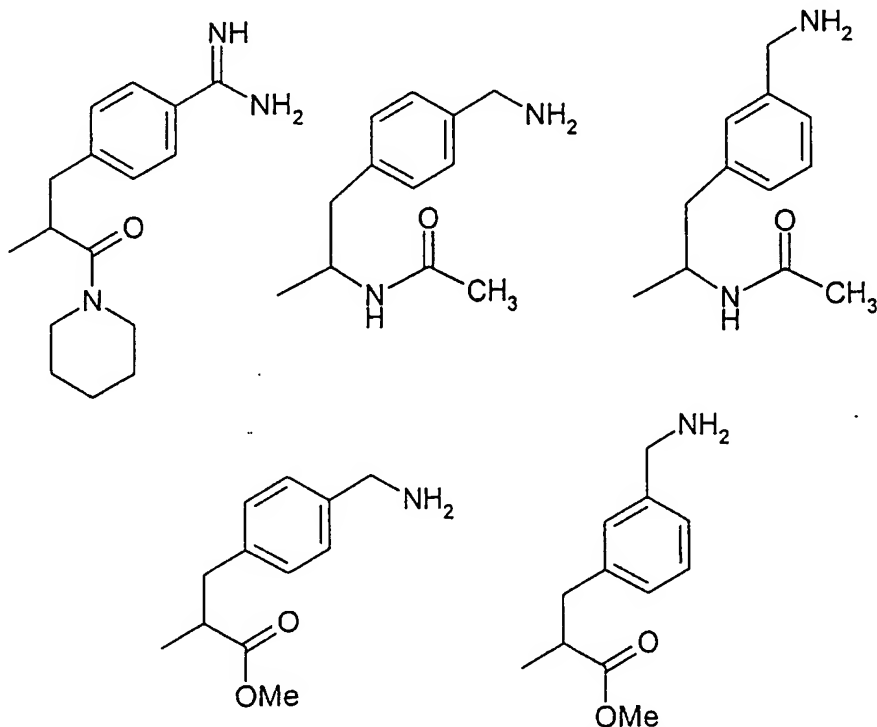


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

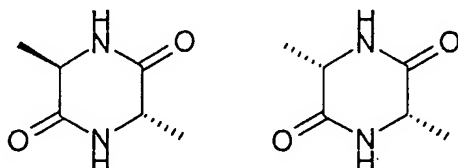
B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-3C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,  
 sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

Eine Ausgestaltung der besonders hervorzuhebenden Verbindungen der Formel I sind solche, worin  
 A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NH-C(O)- bedeuten,  
 A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten,  
 M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

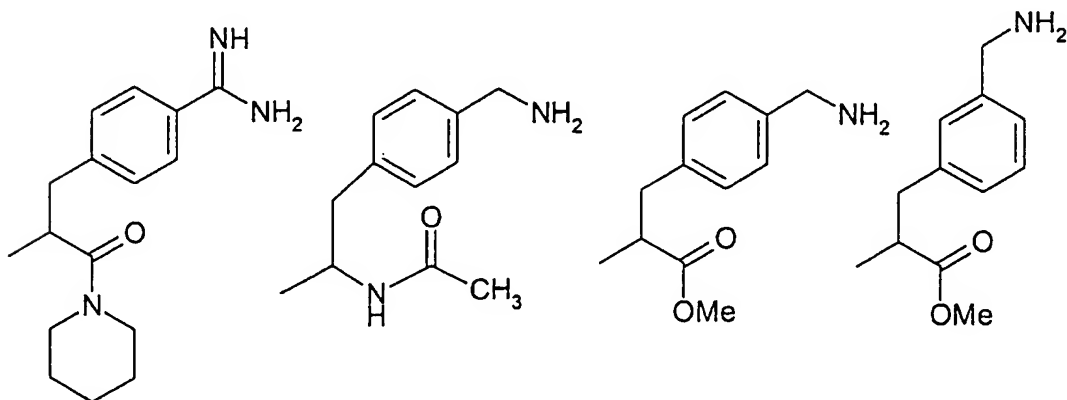


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-2C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

Bevorzugte Verbindungen der Formel I sind

(3S,6S)-3,6-Di-[4-{3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino}-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-[4-{2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino}-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-6-{2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethyl}-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-({2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-({3-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-propylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin und  
(3S,6S)-3,6-Di-4-[3-(3-aminomethylphenyl)-2-acetylamino-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin,  
sowie die Salze dieser Verbindungen.

Eine Ausgestaltung der bevorzugten Verbindungen der Formel I sind

(3S,6S)-3,6-Di-4-{3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6S)-3,6-Di-4-[2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin und  
(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
sowie die Salze dieser Verbindungen.

Bei den Verbindungen der Formel I handelt es sich um chirale Verbindungen mit mehreren Chiralitätszentren. Die Erfindung umfaßt daher alle denkbaren reinen Diastereomeren und Enantiomeren als auch deren Gemische in jedem Mischungsverhältnis, einschließlich der Racemate.

Die Verbindungen der Formel I setzen sich aus einer Vielzahl divalenter (M, A1, A2, A3, A4, B1, B2, B3, B4) und aus zwei monovalenten Bausteinen (Y1 und Y2) zusammen. Ihre Synthese kann grundsätzlich ausgehend von jedem dieser Bausteine erfolgen. Bei weitgehend symmetrisch aufgebauten Verbindungen der Formel I bietet sich der Aufbau beginnend vom Zentralbaustein M an, während bei überwiegend unsymmetrischen Verbindungen der Formel I die Synthese ausgehend von einem der Endgruppen Y1 oder Y2 vorteilhaft sein kann.

Die Verknüpfung der Bausteine erfolgt dabei immer nach dem gleichen, dem Fachmann an sich bekannten Muster.

Dem Fachmann ist bekannt, daß die Verbindungen der Formel I entweder Baustein für Baustein aufgebaut werden können, oder daß zunächst größere aus mehreren Einzelbausteinen bestehende Fragmente erstellt werden können, die anschließend zum Gesamtmolekül zusammengesetzt werden.

Aufgrund der Bedeutungen, die die einzelnen Bausteine der Verbindungen der Formel I annehmen können, treten in den Verbindungen der Formel I Amino- [-NH-], Ether [-O-], Thioether [-S-], Keto- [-C(O)-], Ester- [-O-C(O)-, -C(O)-O-], Amid- [-C(O)-NH-, -NH-C(O)-], Sulfonamid [-SO<sub>2</sub>-NH-, -NH-SO<sub>2</sub>-], Carbamat- [-NH-C(O)-O-, -O-C(O)-NH-], Carbamid- [-NH-C(O)-NH-] oder Carbonatbrücken [-O-C(O)-O-] auf.

Die Art und Weise, wie solche Brücken hergestellt werden, sind dem Fachmann an sich bekannt, geeignete Methoden und Ausgangsverbindungen zu ihrer Herstellung werden beispielsweise in March, Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure, Third Edition, 1985, John Wiley & Sons beschrieben.

Ether- und Thioetherbrücken können beispielsweise nach der Methode von Williamson hergestellt werden.

Ketobrücken können beispielsweise als Bestandteil größerer Bausteine, wie z. B. dem 1,3-Dichloraceton eingeführt werden.

Sulfonylbrücken können beispielsweise durch Oxidation von Thioetherbrücken erhalten werden.

Für den Aufbau von Esterbrücken ist eine Vielzahl von Methoden bekannt. Beispielhaft genannt sei hier die Umsetzung von Säuren mit Alkoholen, vorzugsweise unter Verwendung von H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oder p-Toluolsulfonsäure als Katalysator; oder unter Zugabe eines wasserentziehenden Mittels, wie zum Beispiel Molekularsieb oder einem Carbodiimid. Desweiteren kann hier die Umsetzung von Säurechloriden mit Alkoholen genannt werden.

Auch für die Darstellung von Amidbrücken gibt es eine Vielzahl bekannter Methoden. Als Beispiel sei hier die Umsetzung von Säurechloriden mit primären oder sekundären Aminen genannt. Desweiteren sei auch auf all die Methoden verwiesen, die für die Peptidchemie entwickelt wurden. Entsprechend lassen sich aus Sulfonsäurechloriden und primären oder sekundären Aminen Sulfonamidbrücken aufbauen.

Carbamatbrücken können z. B. durch Reaktion von Chlorkohlensäureestern mit Aminen hergestellt werden. Die Chlorkohlensäureester ihrerseits können aus Alkoholen und Phosgen aufgebaut werden.

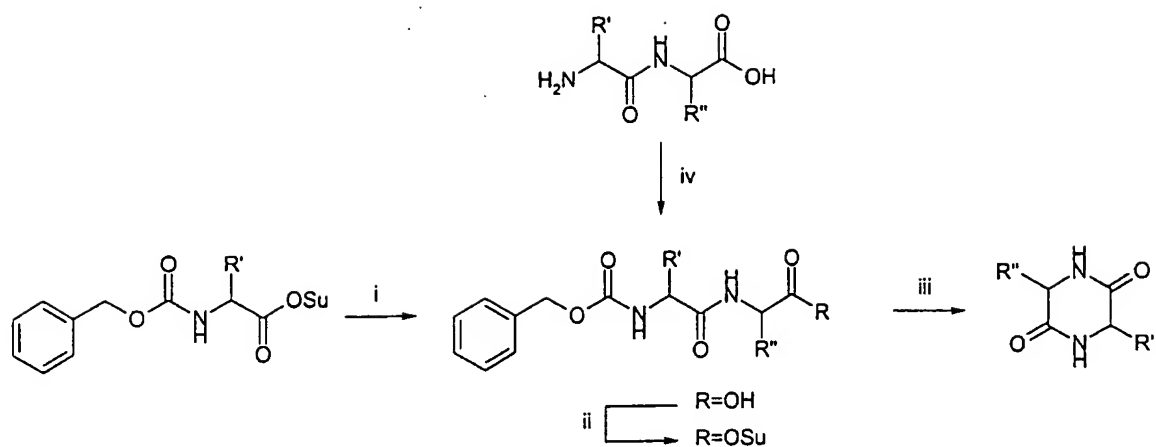
Eine weitere Variante zum Aufbau von Carbamatbrücken stellt die Addition von Alkoholen an Isocyanate dar.

Ähnlich wie bei den Carbamatbrücken können ausgehend von Chlorkohlensäureestern durch Umsetzung mit Alkoholen (anstatt Aminen) Carbonatbrücken hergestellt werden.

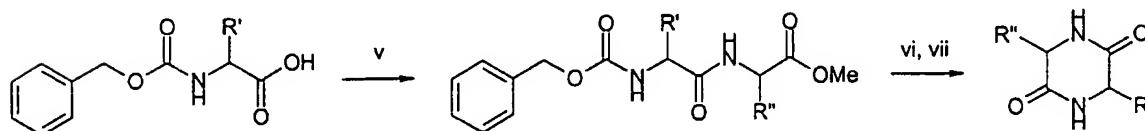
Carbamidbrücken lassen sich z. B. durch die Reaktion von Isocyanaten mit Aminen herstellen.

Die Herstellung von Verbindungen der Formel I sei exemplarisch an Hand der nachfolgenden Reaktionsschemata aufgezeigt. Weitere Verbindungen der Formel I können analog oder unter Anwendung der oben aufgeführten, dem Fachmann an sich bekannten Methoden hergestellt werden.

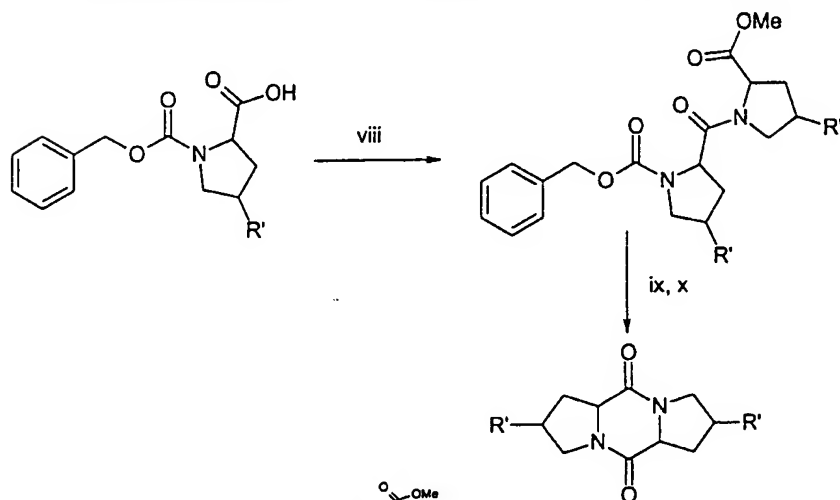
## Reaktionsschema 1:



Reaktionsbedingungen: (i)  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R}'')-\text{COOH}$ , DMF; (ii)  $\text{HO-Su/DCC}$ , DMF; (iii)  $10\% \text{Pd-C/H}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$   
 (iv)  $\text{Z-OSu}$ , Dioxan,  $\text{H}_2\text{O}$

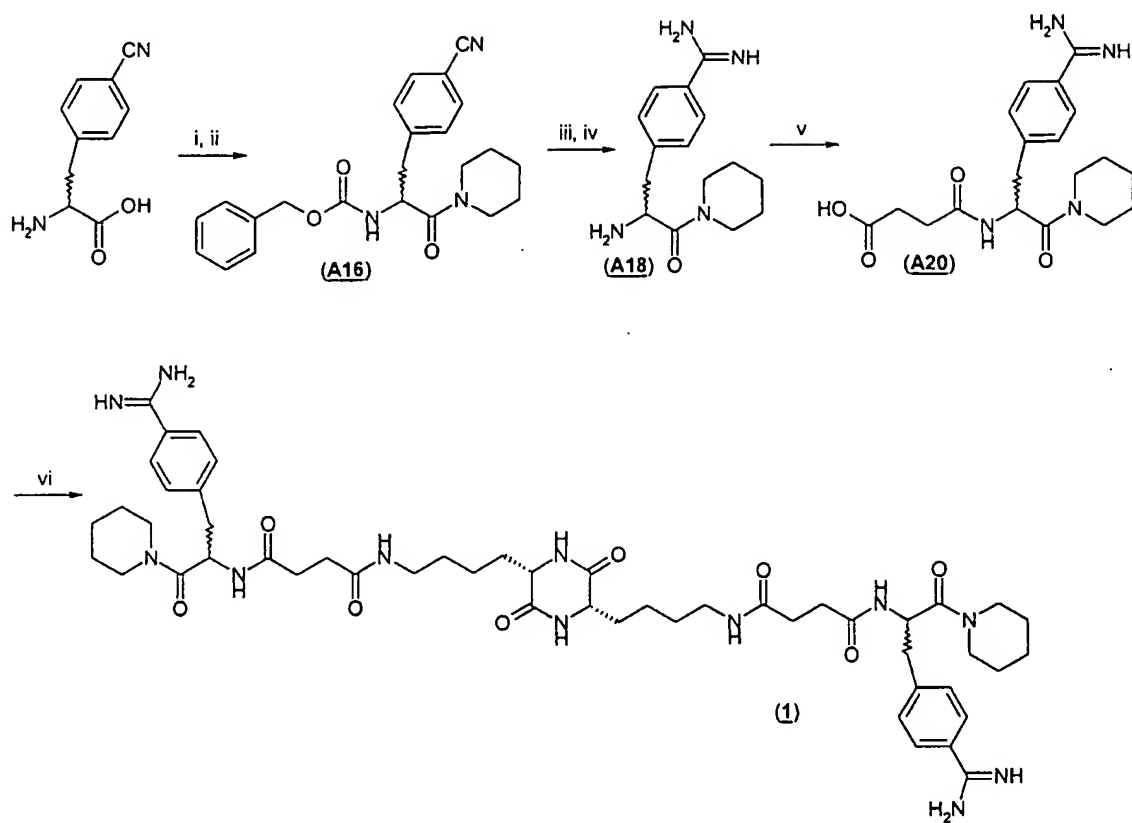


Reaktionsbedingungen: (v)  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R}'')-\text{COOMe/EDC/HOBt}$ , DMF; (vi)  $10\% \text{Pd-C/H}_2$ , MeOH; (vii) T



Reaktionsbedingungen: (viii)  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{R}'')-\text{COOMe/EDC/HOBt}$ , DMF; (ix)  $10\% \text{Pd-C/H}_2$ , MeOH; (x) T, R' z. B. OH

## Reaktionsschema 2:



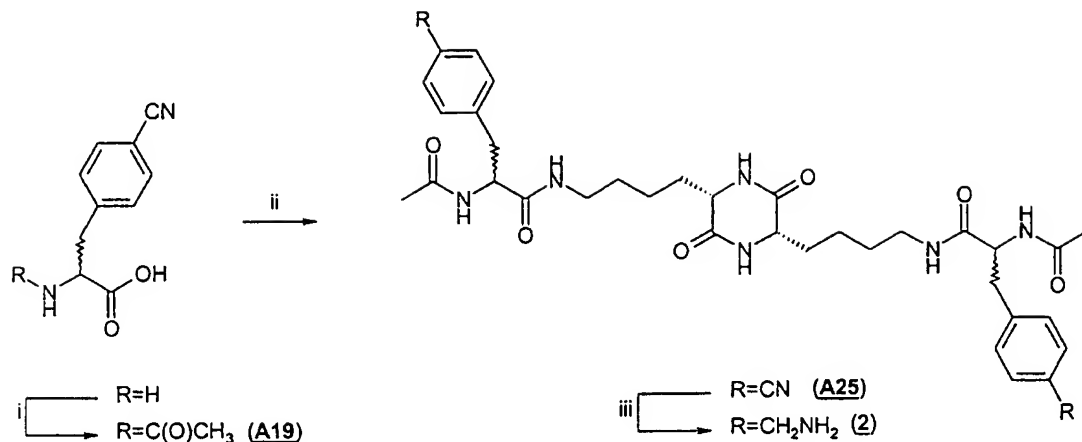
## Reaktionsbedingungen:

- (i) Z-OSu/1N NaOH, Dioxan;
- (ii) Piperidin/EDC/HOBt,  $\text{CHCl}_3$ ;
- (iii)  $\text{HO-NH}_2 \times \text{HCl}$ /DIEA, EtOH, Rückfluß;
- (iv) 10% Pd-C/ $\text{H}_2$ , HOAc/EtOH (1:2);
- (v) Bernsteinsäureanhydrid/DIEA, DMF;
- (vi) c[Lys( $\text{HN}_2$ )-Lys( $\text{NH}_2$ )] (**A10**) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  (6:1).



-16-

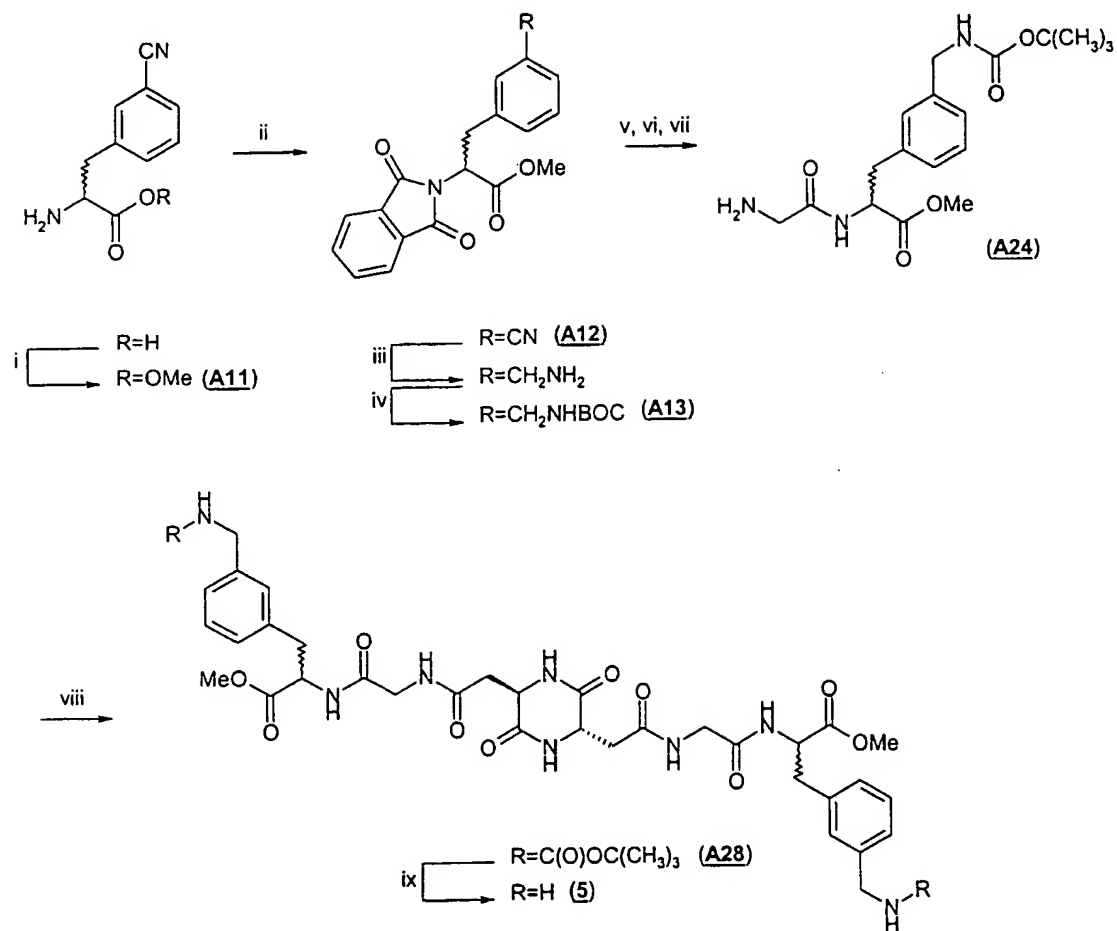
## Reaktionsschema 3:



## Reaktionsbedingungen:

- (i) Ac<sub>2</sub>O/Pyridin, DMF;
- (ii) c[Lys(NH<sub>2</sub>)-Lys(NH<sub>2</sub>)] (**A10**) /DIEA/EDC/HOBt, DMF/H<sub>2</sub>O (3:1);
- (iii) 10% Pd-C/H<sub>2</sub>, AcOH.

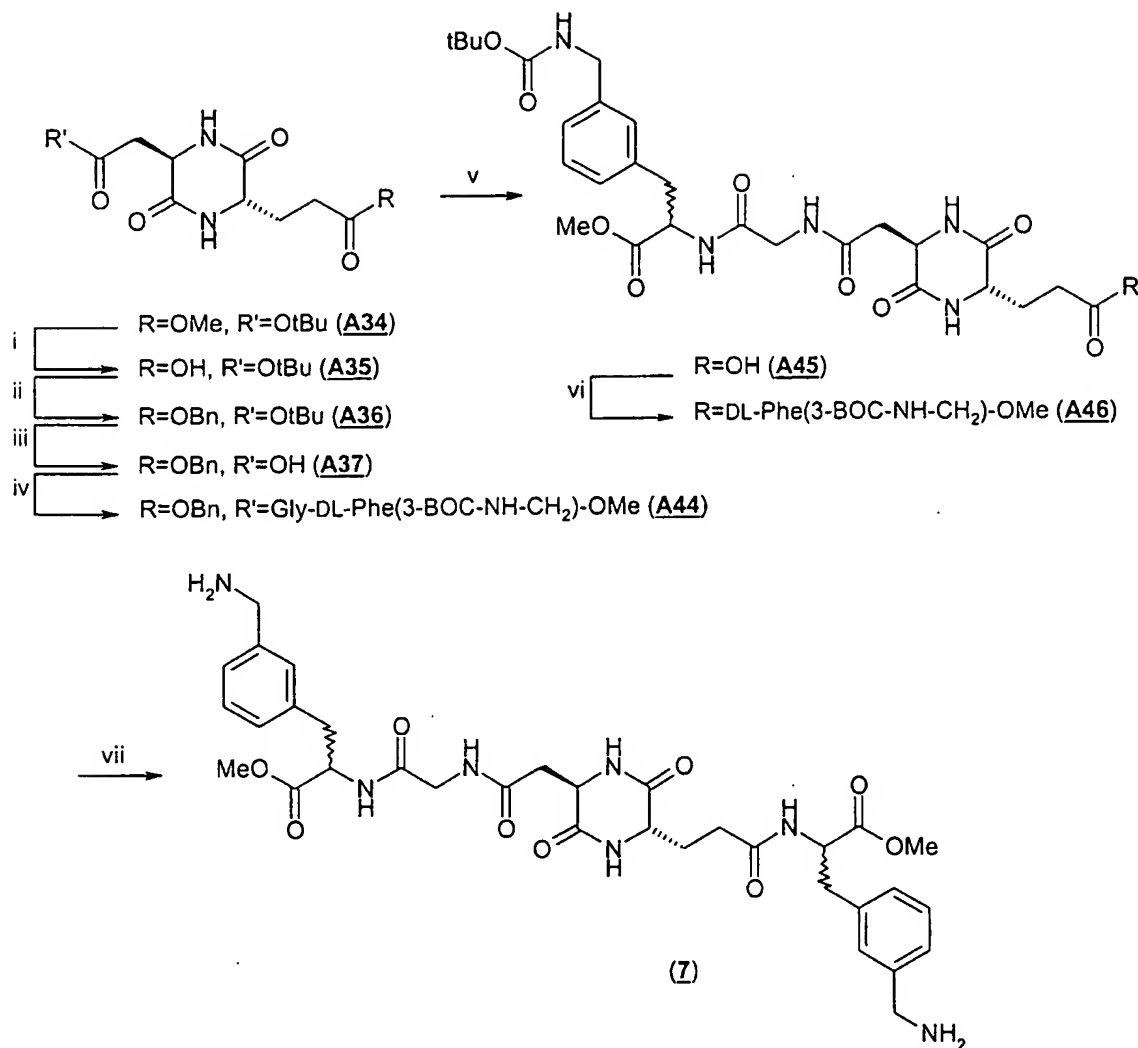
## Reaktionsschema 4:



## Reaktionsbedingungen:

- (i) MeOH/SOCl<sub>2</sub>, -5° C;
- (ii) N-Ethoxycarbonylphthalimid/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Dioxan/Wasser (1:1);
- (iii) 10% Pd-C/H<sub>2</sub>, HOAc;
- (iv) (BOC)<sub>2</sub>O/NaHCO<sub>3</sub>, Dioxan/Wasser (1:1);
- (v) H<sub>2</sub>N-NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O/HOAc, MeOH, 50° C;
- (vi) Z-Gly-OH/DIEA/EDC/HOBt, CHCl<sub>3</sub>;
- (vii) 10%Pd-C/H<sub>2</sub>, MeOH;
- (viii) c[DAsp(OH)-Asp(OH)] A7 /DIEA/EDC/HOBt, DMF; (ix) 95%ige TFA, 0° C → RT

## Reaktionsschema 5:



## Reaktionsbedingungen:

- (i) NaOH, THF/Wasser (2:1);
- (ii) a) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, b) C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-Br, DMF;
- (iii) 95%ige TFA 0°C → RT;
- (iv) H-Gly-DL-Phe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe × HCl **A24**/DIEA/EDC/HOBt, DMF;
- (v) 10% Pd-C/H<sub>2</sub>, AcOEt;
- (vi) H-DL-Phe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe × HCl **A14**/DIEA/EDC/HOBt, DMF;
- (vii) 95%ige TFA 0°C → RT

In Reaktionsschema 1 werden verschiedene Varianten für die Synthese des Diketopiperazinbausteins M aufgezeigt. Als Ausgangsprodukte für die Diketopiperazinbausteine eignen sich eine Vielzahl von Aminosäuren, z. B. D- und L-Asparaginsäure, D- und L-Glutaminsäure, D- und L-Lysin, D- und L-Tyrosin oder D- und L-Hydroxyprolin. Weitere geeignete Ausgangsprodukte sind Indanderivate, wie z. B. 2,5-Diaminoindan-2-carbonsäure. Der Tetrahydro-2,4a,6,8a-tetraaza-anthracen-3,7,9,10-tetraon-Baustein kann z. B. ausgehend von 3,5-Bismethylaminopiperazin-2,5-dion durch Einführung einer Schutzgruppe an den Aminogruppen (z. B. mit tert-Butyloxycarbonyl), Aktivierung der Piperazin-Stickstoffe (z. B. mit (i) Iodessigsäure; (ii) Hydroxysuccinimid/Dicyclohexylcarbodiimid) und anschließende Ringschlußreaktion hergestellt werden.

Über die Wahl der Aminosäurechiralität läßt sich die gewünschte Chiralität des Diketopiperazinbausteins einstellen; zusätzlich ist bei Einsatz von zwei unterschiedlichen Aminosäuren auch der Zugang zu unsymmetrischen Diketopiperazinbausteinen möglich.

Die Reaktionsschemata 2, 3 und 4 zeigen beispielhaft die Herstellung von Verbindungen der Formel I. Durch die geeignete Wahl der Chiralität der Ausgangsverbindungen kann jede gewünschte Stereochemie der Verbindungen der Formel I hergestellt werden. Reaktionsschema 5 zeigt beispielhaft die Herstellung von Verbindungen der Formel I mit unsymmetrischen Aufbau.

Die Herstellung weiterer Verbindungen der Formel I ist in den nachfolgenden Beispielen beschrieben.

Dem Fachmann ist außerdem bekannt, daß es im Fall mehrerer reaktiver Zentren an einer Ausgangs- oder Zwischenverbindung notwendig sein kann, ein oder mehrere reaktive Zentren temporär durch Schutzgruppen zu blockieren, um eine Reaktion gezielt am gewünschten Reaktionszentrum ablaufen zu lassen. Eine ausführliche Beschreibung zur Anwendung einer Vielzahl bewährter Schutzgruppen findet sich beispielsweise in T.W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991.

Die Isolierung und Reinigung der erfindungsgemäßen Substanzen erfolgt in an sich bekannter Weise z.B. derart, daß man das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und den erhaltenen Rückstand aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert oder einer der üblichen Reinigungsmethoden, wie beispielsweise der Säulenchromatographie an geeignetem Trägermaterial, unterwirft.

Salze erhält man durch Auflösen der freien Verbindung in einem geeigneten Lösungsmittel (z.B. einem Keton, wie Aceton, Methylethylketon oder Methylisobutylketon, einem Ether, wie Diethylether, Tetrahydrofuran oder Dioxan, einem chlorierten Kohlenwasserstoff, wie Methylenchlorid oder Chloroform, oder einem niedermolekularen aliphatischen Alkohol wie Ethanol oder Isopropanol), das die gewünschte Säure bzw. Base enthält, oder dem die gewünschte Säure bzw. Base anschließend zugegeben wird. Die Salze werden durch Filtrieren, Umfällen, Ausfällen mit einem Nichtlösungsmittel für das Anlagerungssalz oder durch Verdampfen des Lösungsmittels gewonnen. Erhaltene Salze können durch Alkalisierung bzw. durch Ansäuern in die freien Verbindungen umgewandelt werden, welche

wiederum in Salze übergeführt werden können. Auf diese Weise lassen sich pharmakologisch nicht verträgliche Salze in pharmakologisch verträgliche Salze umwandeln.

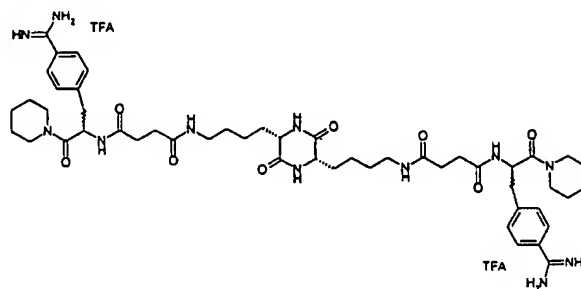
Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung der Erfindung ohne sie einzuschränken. Ebenso können weitere Verbindungen der Formel I, deren Herstellung nicht explizit beschrieben ist, in analoger oder in einer dem Fachmann an sich vertrauten Weise unter Anwendung üblicher Verfahrenstechniken hergestellt werden.

In den folgenden Beispielen steht die Abkürzung RT für Raumtemperatur, min für Minuten, h für Stunden, ber. für berechnet, HOBt für 1-Hydroxy-1H-Benzotriazol, DCC für N, N'-Dicyclohexylcarbodiimid, EDC für N'-(3-Dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimid, DIEA für Diisopropylethylamin, TFA für Trifluoressigsäure, HOSu für N-Hydroxysuccinimid, Z-OSu für N-(Benzyloxycarbonyloxy)-succinimid, RP-HPLC für Reverse Phase High Pressure Liquid Chromatography, DC für Dünnschichtchromatographie und ESI-MS für Elektrospray-Massenspektrometrie. Die beispielhaft genannten Verbindungen und ihre Salze sind bevorzugter Gegenstand der Erfindung.

## Beispiele

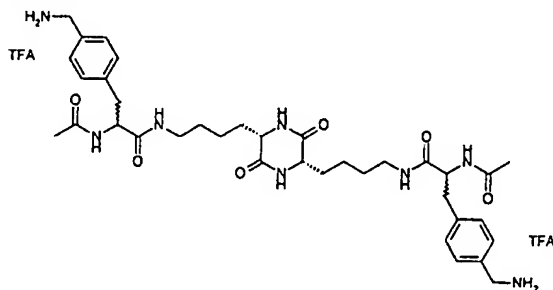
### Endverbindungen:

1. Pip-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N(NH=C)-CO(CH<sub>2</sub>)CO-c[Lys-Lys]-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N(NH=C)-  
Pip×2TFA oder  
[(3S,6S)-3,6-Di-(4-{3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-  
propanoylamino)-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



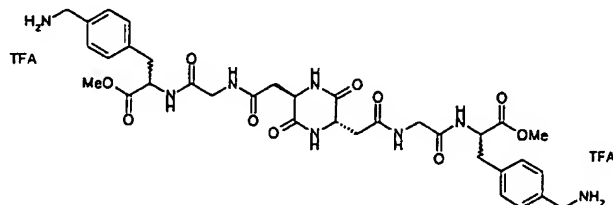
HO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N(NH=C)-Pip)·xHCl (136,7 mg, 0,332 mmol, A20), c[Lys(NH<sub>2</sub>)-Lys(NH<sub>2</sub>)]·2 HCl (50,0 mg, 0,152 mmol, A10) und DIEA (52 µL, 0,304 mmol) gelöst in 3.5 ml DMF/H<sub>2</sub>O (6:1) werden unter Verwendung von EDC (69,9 mg, 0,364 mmol)/HOBt (49,2 mg, 0,364 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Solvens im Hochvakuum abgezogen und das erhaltene Öl 2-mal mit Toluol behandelt. Das Rohprodukt wird durch Fällung aus MeOH/Essigester isoliert und durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0.1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 5% B, 5–10 min linearer Gradient von 5% B auf 18% B, 10–90 min linearer Gradient von 18% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 64,6 mg; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 20:20:9) R<sub>f</sub> = 0,20; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ=1.10–1.80 (3 br m, 24H, 2×CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> Pip, 2×βCH<sub>2</sub> Lys, 2×γCH<sub>2</sub> Lys, 2×δCH<sub>2</sub> Lys), 2.14–2.40 (br m, 8H, 2×CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO), 2.80–3.60 (5 m, 16H, 2×βCH<sub>2</sub> Phe(4-NH<sub>2</sub>(NH=C)), 2×εCH<sub>2</sub> Lys, 4×N-CH<sub>2</sub> Pip, partielle Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 3.80 (m, 2H, 2×αCH<sub>2</sub> Lys, Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4.96 (m, 2H, 2×αCH Phe(4-NH<sub>2</sub>(NH=C))), 7.45, 7.72 (2 d, 8H, J = 8.0 Hz, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-NH<sub>2</sub>(NH=C))), 7.75 (m, 2H, 2×εNH Lys), 8.08 (s, 2H, 2×αNH Lys), 8.34 (d, 2H, J = 8.0 Hz, 2×αNH Phe(4-NH<sub>2</sub>(NH=C))), 9.05, 9.23 (2 s, 8H, 2×H<sub>2</sub>N(H<sub>2</sub>N=C)); ESI-MS: *m/z* = 485,6 [M+2H]<sup>2+</sup>; ber. für C<sub>50</sub>H<sub>72</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>: 968,55.

2. Ac-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-c[Lys-Lys]-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-Ac×2TFA oder  
[(3S,6S)-3,6-Di-{4-[2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl}-  
1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



Ac-DLPhe(4-CN)-c[Lys-Lys]-DLPhe(4-CN)-Ac (100,0 mg, 0,15 mmol, A25) werden in 15 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C, p(H<sub>2</sub>) = 1bar). Nach 48 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, das erhaltene Öl mit Essigester versetzt, sonifiziert, der gebildete Niederschlag abzentrifugiert, mit Essigester, *tert*-Butylmethylether und Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 3% B, 5–90 min linearer Gradient von 3% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 40,2 mg; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12:9:4) R<sub>f</sub> = 0,7; HPLC t<sub>R</sub> = 3,4 min; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1,24–1,43, 1,56–1,73 (2 br m, 12H, 2×βCH<sub>2</sub> Lys, 2×γCH<sub>2</sub> Lys, 2×δCH<sub>2</sub> Lys), 1,75 (s, 6H 2×(O)CH<sub>3</sub>), 2,73 (m, 2H, 2×β<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 2,97 (m, 2H, 2×β<sub>1</sub>CH<sub>2</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 3,03 (m, 4H, 2×εCH<sub>2</sub> Lys), 3,78 (m, 2H, 2×αCH<sub>2</sub> Lys), 3,98 (s, 4H, 2×CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 4,43 (m, 2H, 2×αCH<sub>2</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7,27 (d, 4H, J = 8,1 Hz, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7,34 (d, 4H, J = 8,1 Hz, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7,94 (m, 2H, 2×εNH Lys), 8,06 (br s, 6H, 2×CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub> Phe(4-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 8,08 (s, 2H, 2×αNH Lys); ESI-MS: m/z = 693,6 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>: 692,40.

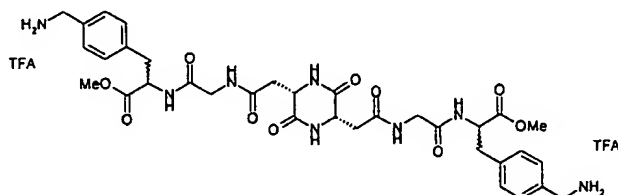
3. MeO-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-OMe×2TFA oder  
[(3S,6R)-3,6-Di-{[2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-  
methylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin×2TFA]



MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (50,0 mg, 0,07 mmol, A27) wurden in 75 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C, p(H<sub>2</sub>) = 1bar). Nach 24 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand mit Toluol behandelt, in Methanol gelöst, *tert*-Butylmethylether zugesetzt, der gebildete flockige Niederschlag abzentrifugiert, mit *tert*-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige

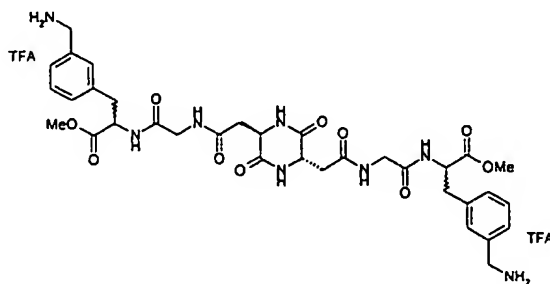
TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: 0–5 min isokratisch 5% B, 5–10 min linearer Gradient von 5% B auf 18% B, 10–90 min linearer Gradient von 18% B auf 60% B) und lyophilisiert. Ausbeute: 27,0 mg; HPLC  $t_R$  = 6,1 min;  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 2.53–2.70, 2.92, 3.05 (3 m, 8H,  $2\times\beta\text{CH}_2$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ ),  $2\times\beta\text{CH}_2$  Asp), 3.60 (s, 6H,  $2\times\text{OCH}_3$ ), 3.68 (m, 4H,  $2\times\alpha\text{CH}_2$  Gly), 4.00 (m, 4H,  $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 4.15 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Asp), 4.46 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.26, 7.36 (2 m, 8H,  $2\times\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.91, 8.10–8.30, 8.39 (3 m, 12H,  $2\times\alpha\text{NH}$  Asp,  $2\times\alpha\text{NH}$  Gly,  $2\times\alpha\text{NH}$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ ),  $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3$  Phe(4- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )); ESI-MS:  $m/z$  = 725,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_{10}$ : 724,31.

4. MeO-DLPhe(4- $\text{H}_2\text{N-CH}_2$ )-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4- $\text{H}_2\text{N-CH}_2$ )-OMe $\times 2\text{TFA}$  oder  
[(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-  
methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin $\times 2\text{TFA}$ ]



MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (100,0 mg, 0,14 mmol, A26) werden in 75 ml Eisessig gelöst und katalytisch reduziert (10%Pd-C,  $p(\text{H}_2)$  = 1bar). Nach 30 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen, das erhaltene Öl in Methanol gelöst, *tert*-Butylmethylether zugesetzt, der gebildete Niederschlag abzentrifugiert, mit *tert*-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt (Nucleosil 5 C-18 (Macherey-Nagel); Eluenten: (A) 0,1%ige wässrige TFA, (B) 0,08% TFA in Acetonitril; Elutionsprofil: linearer Gradient von 10% B auf 60% in 50 min) und lyophilisiert. Ausbeute: 25.0 mg; HPLC  $t_R$  = 4,5 min; ESI-MS:  $m/z$  = 725,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_{10}$ : 724,31.

5. MeO-DLPhe(3- $\text{H}_2\text{N-CH}_2$ )-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(3- $\text{H}_2\text{N-CH}_2$ )-OMe $\times 2\text{TFA}$  oder  
[(3S,6R)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-  
methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin $\times 2\text{TFA}$ ]

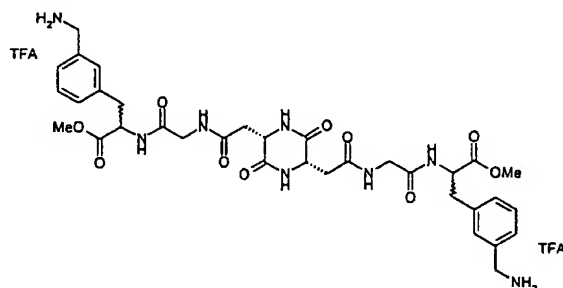


MeO-DLPhe(3-BOC-HN- $\text{CH}_2$ )-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(3-BOC-HN- $\text{CH}_2$ )-OMe (75,0 mg, 0,08 mmol, A28) werden in 10 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung



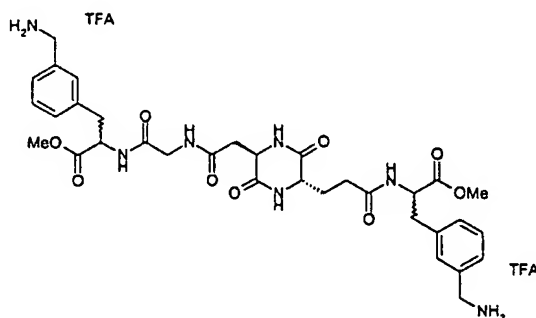
unterzogen. Nach 4 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt und die Titelverbindung durch Fällung aus Isopropanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 74,0 mg; HPLC  $t_R$  = 5,6 min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 2.54–2.73, 2.93, 3.04 (3 m, 8H,  $2\times\beta\text{CH}_2$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ ),  $2\times\beta\text{CH}_2$  Asp), 3.61 (s, 6H,  $2\times\text{OCH}_3$ ), 3.70 (m, 4H,  $2\times\alpha\text{CH}_2$  Gly), 4.02 (m, 4H,  $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ )), 4.17 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Asp), 4.48 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.21–7.37 (br m, 8H,  $2\times\text{C}_6\text{H}_4$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ )), 8.14 (br s, 6H,  $2\times\text{CH}_2\text{NH}_3$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.95, 8.27, 8.37 (3 m, 6H,  $2\times\alpha\text{NH}$  Asp,  $2\times\alpha\text{NH}$  Gly,  $2\times\alpha\text{NH}$  Phe( $3\text{-H}_2\text{NCH}_2$ )); ESI-MS:  $m/z$  = 725,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_{10}$ : 724,31.

6. MeO-DLPhe( $3\text{-H}_2\text{N-CH}_2$ )-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe( $3\text{-H}_2\text{N-CH}_2$ )-OMe $\times 2\text{TFA}$  oder [(3S,6S)-3,6-Di-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl]ethylcarbamoyl}-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin $\times 2\text{TFA}$ ]



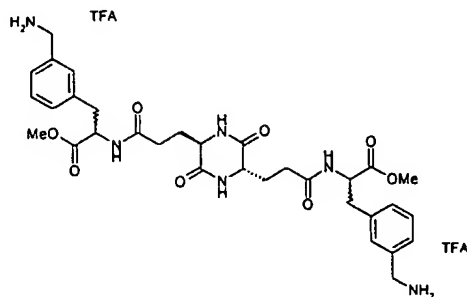
MeO-DLPhe( $3\text{-BOC-HN-CH}_2$ )-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe( $3\text{-BOC-HN-CH}_2$ )-OMe (75,0 mg, 0,08 mmol, A29) werden in 10 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen. Nach 2 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt und die Titelverbindung durch Fällung aus Isopropanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 65,0 mg; HPLC  $t_R$  = 5,7 min; ESI-MS:  $m/z$  = 725,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{O}_{10}$ : 724,31.

7. MeO-DLPhe( $3\text{-H}_2\text{N-CH}_2$ )-Gly-c[DAsp-Glu]-DLPhe( $3\text{-H}_2\text{N-CH}_2$ )-OMe $\times 2\text{TFA}$  oder (3S,6R)-6-({[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl]ethylcarbamoyl}-methylcarbamoyl)-methyl)-3-{2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl]ethylcarbamoyl]-ethyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin



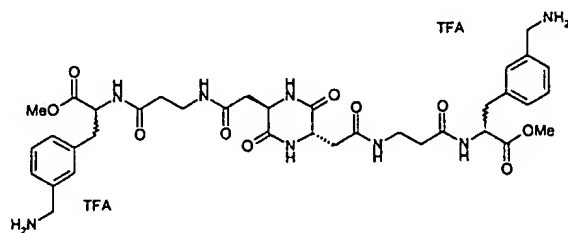
Die Endverbindung wird durch Entschützen von A46 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 43 mg; HPLC  $t_R$  = 7,2 min; ESI-MS:  $m/z$  = 682,4  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{33}H_{43}N_7O_9$ : 681,33.

8. MeO-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-c[DGlu-Glu]-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-OMe×2TFA oder  
(3S,6R)-3,6-Di-{2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethyl}-  
1,4H-2,5-dioxopiperazin



Die Endverbindung wird durch Entschützen von A47 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 106 mg; HPLC  $t_R$  = 4,4 min; ESI-MS:  $m/z$  = 639,4  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{32}H_{42}N_6O_8$ : 638,30.

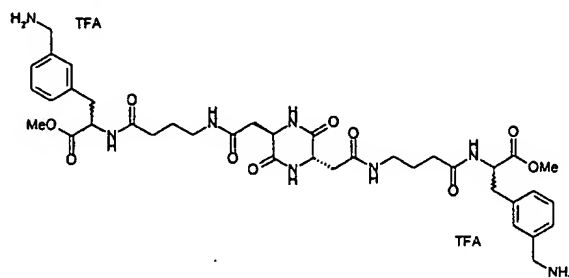
9. MeO-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-β-Ala-c[DAsp-Asp]-β-Ala-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-OMe×2TFA oder  
(3S,6R)-3,6-Di-{2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-  
ethylcarbamoyl]-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin



Die Endverbindung wird durch Entschützen von A48 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 19 mg; HPLC  $t_R$  = 6,2 min; ESI-MS:  $m/z$  = 753,6  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{36}H_{48}N_8O_{10}$ : 752,34.

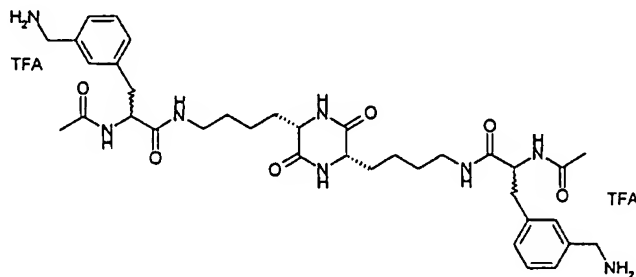
10. MeO-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-c[DAsp-Asp]-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CO-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-OMe x2TFA oder

(3S,6R)-3,6-Di-({3-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-propylcarbamoyl}-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin



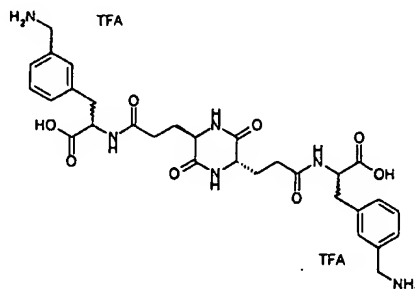
Die Endverbindung wird durch Entschützen von A49 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 89 mg; HPLC  $t_R$  = 2,8 min; ESI-MS:  $m/z$  = 781,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>: 780,38.

11. Ac-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-c[Lys-Lys]-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-Ac x2TFA oder  
(3S,6S)-3,6-Di-{4-[3-(3-aminomethylphenyl)-2-acetyl-amino-propanoylamino]-butyl}-1,4H-2,5-dioxopiperazin



Die Endverbindung wird durch Entschützen von A50 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 129 mg; HPLC  $t_R$  = 4,4 min; ESI-MS:  $m/z$  = 693,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>: 692,40.

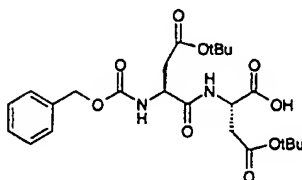
12. HO-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-c[DGlu-Glu]-DLPhe(3-H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)-OH×2TFA oder  
(3S,6R)-3,6-Di-{2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-carboxy-ethylcarbamoyl]-ethyl}-1,4H-2,5-  
dioxopiperazin



Die Endverbindung wird durch Entschützen von A51 analog Endverbindung 5 dargestellt. Ausbeute: 72 mg; HPLC  $t_R$  = 3,1 min; ESI-MS:  $m/z$  = 611,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>: 610,27.

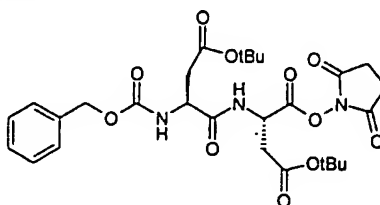
Ausgangsverbindungen:

A1. Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH



5,81 g (16,1 mmol) H-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH werden in 100 ml Dioxan/Wasser 1:1 vorgelegt, mit 2,70 g (32,2 mmol) NaHCO<sub>3</sub> neutralisiert und die klare Lösung unter Rühren mit 4,02 g (177 mmol) Z-OSu versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum fast vollständig abgezogen, die Wasserphase mit KHSO<sub>4</sub> angesäuert, mit Essigester extrahiert, die Essigesterphase mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene farblose Öl wird mit *tert*-Butylmethylether/Petrolether versetzt und kurz sonifiziert, wobei die Titelverbindung als farbloses Pulver gewonnen wird. Ausbeute: 7,38 g; HPLC  $t_R$  = 10,8 min; ESI-MS:  $m/z$  = 495,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: 494,22.

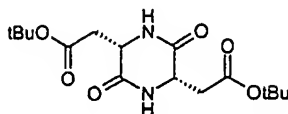
A2. Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OSu



Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH (3,00 g, 6,06 mmol, Ausgangsverbindung A1) und HOSu (0,70 g, 6,06 mmol) werden in 50 ml Acetonitril gelöst und schließlich unter Eisbadkühlung und Rühren mit DCC (1,25 g, 6,06 mmol) versetzt. Nach 16 h wird der gebildete Harnstoff abfiltriert und das Lösungsmittel

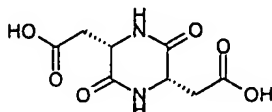
im Vakuum abgezogen, wobei der Hydroxysuccinimidester als farbloser Schaum anfällt. Ausbeute: 3,62 g; HPLC  $t_R$  = 11,6 min; ESI-MS:  $m/z$  = 592,4  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{28}H_{37}N_3O_{11}$ : 591,24.

A3. c[Asp(OtBu)-Asp(OtBu)]



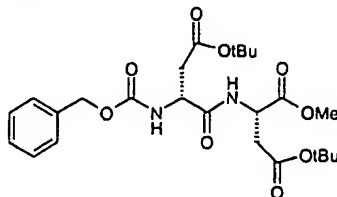
Z-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OSu (3,62 g, 6,12 mmol, A2) werden in 500 ml Acetonitril gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C,  $p(H_2)$  = 1bar) unterzogen, wobei sich nach kurzer Zeit ein farblos-er Niederschlag (Diketopiperazin) bildet. Nach 5 h wird soviel Chloroform zugesetzt, bis sich der Niederschlag vollständig gelöst hat, der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der erhaltene Rückstand wird in Chloroform gelöst, die Chloroformphase mit 5%iger  $KHSO_4$ -Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen schließlich über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Pulver wird aus siedendem Methanol umkristallisiert, wobei die Titelverbindung in Form farbloser Nadeln erhalten wird. Ausbeute: 1,38 g; DC (Chloroform/Methanol 9:1)  $R_f$  = 0,6, DC (Essigester)  $R_f$  = 0,3, HPLC  $t_R$  = 8.9 min;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 1.39 (s, 18H,  $2 \times C(CH_3)_3$ ), 2.62 (m, 4H,  $2 \times \beta CH_2$  Asp), 4.24 (m, 2H,  $2 \times \alpha CH$  Asp), 8.09 (s, 2H,  $2 \times \alpha NH$  Asp); ESI-MS:  $m/z$  = 343,2  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{16}H_{26}N_2O_6$ : 342,17.

A4. c[Asp(OH)-Asp(OH)]



c[Asp(OtBu)-Asp(OtBu)] (1,00 g, 2,92 mmol, A3) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen. Nach 5 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt, das erhaltene farblose Pulver mit *tert*-Butylmethylether aufgeschlämmt, abgefrittet, mehrfach mit *tert*-Butylmethylether schließlich mit Petroether gewaschen und bei 40 °C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 0.69 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f$  = 0.3;  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  = 2.65 (m, 4H,  $2 \times \beta CH_2$  Asp), 4.24 (m, 2H,  $2 \times \alpha CH$  Asp), 8.06 (s, 2H,  $2 \times \alpha NH$  Asp), 12.30 (br s, 2H,  $2 \times COOH$ ); ESI-MS:  $m/z$  = 231,2  $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_8H_{10}N_2O_6$ : 230,05.

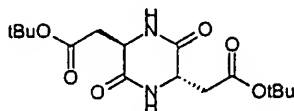
A5. Z-DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)-OMe



Z-DAsp(OtBu)-OH $\times$ H $_2$ O (5,00 g, 19,97 mmol) und H-Asp(OtBu)-OMe $\times$ H $_3$ C-C $_6$ H $_4$ -SO $_3$ H (8,24 g, 21,96 mmol) sowie DIEA (3,78 ml, 21,96 mmol) werden in 200 ml Chloroform vorgelegt und unter Verwen-

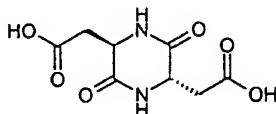
dung von EDC (4,21 g, 21,96 mmol)/HOBt (2,96 g, 21,96 mmol) unter Eisbadkühlung gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger  $\text{KHSO}_4$ -Lösung, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Die Titelverbindung wird aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether in Form farbloser Kristalle isoliert. Ausbeute: 6.79 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10)  $R_f = 0,7$ ; HPLC  $t_R = 12,2$  min; ESI-MS:  $m/z = 509,4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_9$ : 508,24.

A6. c[DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)]

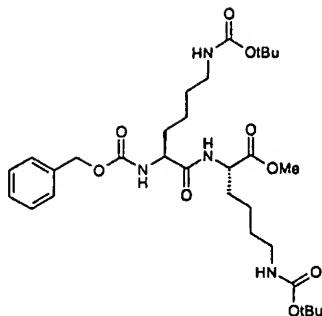


Z-DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)-OMe (6,00 g, 11,79 mmol, A5) werden in 500 ml Methanol gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C,  $p(\text{H}_2) = 1\text{bar}$ ) unterzogen. Nach 7 h wird der Katalysator abfiltriert und die erhaltene methanolische Lösung unter Rückfluß am Sieden gehalten. Nach 3 d wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in wenig Chloroform gelöst, durch einen Millipore-Filter kolloidal gelöster Katalysator abgetrennt, erneut einrotiert und schließlich der Rückstand aus siedendem Methanol umkristallisiert. Die Titelverbindung wird dabei als farbloses, feinkristallines Material erhalten. Ausbeute: 3,23 g; DC (Essigester)  $R_f = 0,5$ ; HPLC  $t_R = 8,3$  min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta = 1.38$  (s, 18H,  $2 \times \text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.56 (m, 2H,  $2 \times \beta_2\text{CH}_2$  Asp), 2.76 (m, 2H,  $2 \times \beta_1\text{CH}_2$  Asp), 4.08 (m, 2H,  $2 \times \alpha\text{CH}$  Asp), 8.09 (s, 2H,  $2 \times \alpha\text{NH}$  Asp); ESI-MS:  $m/z = 343,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$ : 342,17.

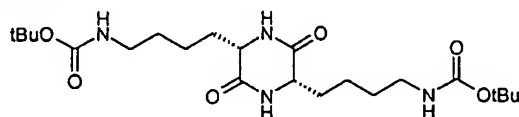
A7. c[DAsp(OH)-Asp(OH)]



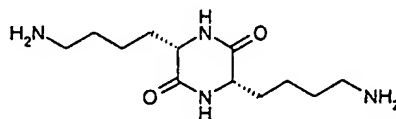
c[DAsp(OtBu)-Asp(OtBu)] (2,00 g, 5,84 mmol, A6) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser, kristalliner Niederschlag bildet. Nach 5 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt, das erhaltene farblose Pulver mit *tert*-Butylmethylether aufgeschlämmt, abgefrittet, mehrfach mit *tert*-Butylmethylether und schließlich mit Petrolether gewaschen und bei 40 °C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 1.35 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,4$ ; ESI-MS:  $m/z = 231,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_6$ : 230,05.

A8. Z-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OMe

H-Lys(BOC)-OMe $\times$ HCl (9,84 g, 31,9 mmol) werden in 130 ml DMF gelöst, mit NMM (3,51 ml, 31,9 mmol) neutralisiert und unter Rühren mit Z-Lys(BOC)-OSu (15,25 g, 31,9 mmol) versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Öl in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger  $\text{KH}_2\text{SO}_4$ -Lösung, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Das Dipeptid fällt dabei als farbloses Pulver an. Ausbeute: 16,0 g; HPLC  $t_R$  = 25,8 min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 1.26–1.36 (m, 26H,  $2\times\gamma\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\delta\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.51–1.69 (m, 4H,  $2\times\beta\text{CH}_2$  Lys), 2.89 (m, 4H,  $2\times\epsilon\text{CH}_2$  Lys), 3.61 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.01, 4.20 (2 m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Lys), 5.02 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ), 6.70 (br s, 2H,  $2\times\epsilon\text{NH}$  Lys), 7.26–7.36 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $\alpha\text{NH}$  Lys), 8.09 (d, 1H,  $J$  = 7.4 Hz,  $\alpha\text{NH}$  Lys).

A9. c[Lys(BOC)-Lys(BOC)]

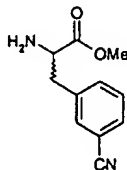
Z-Lys(BOC)-Lys(BOC)-OMe (15,4 g, 24,7 mmol, A8) werden in 165 ml MeOH gelöst, mit Eisessig (1,41 ml, 24,7 mmol) versetzt und der Hydrogenolyse (10%Pd-C,  $p(\text{H}_2)$  = 1bar) unterzogen. Nach beendeter Umsetzung wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abgezogen und das erhaltene Öl aus MeOH/Diethylether umgefällt. Das erhaltene Material wird ohne weitere Reinigung in einem Gemisch aus EtOH/MeOH/Aceton gelöst und für 16 h auf 55 °C erhitzt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das erhaltene farblose Pulver mit Diethylether digeriert und schließlich im Vakuum bei 60 °C getrocknet. Ausbeute: 10,0 g; HPLC  $t_R$  = 9,4 min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  = 1.37 (m, 26H,  $2\times\gamma\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\delta\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.57–1.72 (m, 4H,  $2\times\beta\text{CH}_2$  Lys), 2.89 (m, 4H,  $2\times\epsilon\text{CH}_2$  Lys), 3.78 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Lys), 6.70 (m, 2H,  $2\times\epsilon\text{NH}$  Lys), 8.09 (s, 2H,  $2\times\alpha\text{NH}$  Lys); ESI-MS:  $m/z$  = 457,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6$ : 456,29.

A10. c[Lys(NH<sub>2</sub>)-Lys(NH<sub>2</sub>)] $\times$ 2HCl

c[Lys(BOC)-Lys(BOC)] (10,0 g, 21,9 mmol, A9) werden in 70 ml HCl in Dioxan (1,7 N) suspendiert. Nach 15 h wird das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abgezogen, der erhaltene feste Rückstand

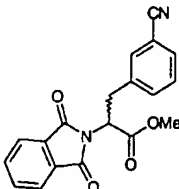
mit Diethylether digeriert und schließlich bei 60 °C im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 7.15 g; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12:9:4)  $R_f = 0,25$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 1.25\text{--}1.86$  (3 m, 12H,  $2\times\beta\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\gamma\text{CH}_2$  Lys,  $2\times\delta\text{CH}_2$  Lys), 2.74 (m, 4H,  $2\times\epsilon\text{CH}_2$  Lys), 3.83 (m, 2H,  $2\times\alpha\text{CH}$  Lys), 8.07 (br s, 6H,  $2\times\epsilon\text{NH}_3^+$  Lys), 8.09 (s, 2H,  $2\times\alpha\text{NH}$  Lys); ESI-MS:  $m/z = 257,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$ : 256,18.

**A11. H-DLPhe(3-CN)-OMe×HCl**



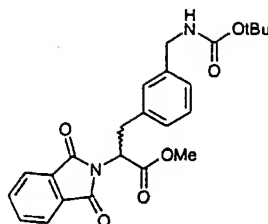
Zu 24 ml gekühltem Methanol (Isopropanol-Trockeneisbad, ca.  $-15$  °C) werden unter Rühren langsam 6,4 ml (87,2 mmol) Thionylchlorid zugetropft und schließlich 15,0 g (78,9 mmol) H-DLPhe(3-CN)-OH eingetragen, so daß die Temperatur nicht über  $-5$  °C steigt. Anschließend wird noch mit Methanol verdünnt und das Reaktionsgemisch für 2 h auf 40 °C erwärmt und noch 16 h bei RT stehengelassen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgezogen und der farblose Rückstand zweimal aus Methanol/*tert*-Butylmethylether umgefällt. Der Methylester wird dabei in Form farbloser Kristalle gewonnen. Ausbeute: 16.0 g ; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,4$ ; ESI-MS:  $m/z = 205,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ : 204,08.

**A12. Pht-DLPhe(3-CN)-OMe**

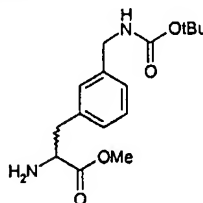


H-DLPhe(3-CN)-OMe×HCl (15,0 g, 62,3 mmol, A11) und 6,6 g (62,3 mmol)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  werden in 300 ml Dioxan/Wasser 1:1 vorgelegt und zur Lösung unter Rühren 15,7 g (71,6 mmol) N-Ethoxycarbonylphthalimid zugesetzt. Nach 1 h werden nochmals 6,8 g (31,1 mmol) N-Ethoxycarbonylphthalimid zugesetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit 5%iger  $\text{KHSO}_4$ -Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Der ölige Rückstand wird aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether umgefällt, wobei die Titelverbindung als farbloses, feinkristallines Material anfällt. Ausbeute: 17.8 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10)  $R_f = 0,8$ ; HPLC  $t_R = 11,1$  min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta = 3.33$  (m, 1H,  $\beta_2\text{CH}_2$  Phe(3-CN)), 3.57 (m, 1H,  $\beta_1\text{CH}_2$  Phe(3-CN)), 3.69 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 5.34 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(3-CN)), 7.39, 7.50, 7.61, 7.70 (4m, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(3-CN)), 7.86 (s, 4H, Pht); ESI-MS:  $m/z = 335,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ : 334,09.



**A13. Pht-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

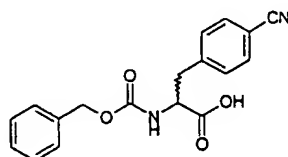
Pht-DLPhe(3-CN)-OMe (1,0 g, 3,0 mmol, A12) werden in 80 ml Eisessig gelöst und der Reduktion unterzogen (100 mg 10%Pd-C,  $p(\text{H}_2) = 1\text{ bar}$ ). Nach 24 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das erhaltene Öl 3-mal mit Toluol behandelt. Die so erhaltene Aminomethylverbindung wird ohne weiter Reinigung in 50 ml Dioxan gelöst, 0,8 g (4,5 mmol)  $(\text{BOC})_2\text{O}$  zugesetzt und schließlich unter Rühren langsam eine Lösung von 0,25 g (3,0 mmol)  $\text{NaHCO}_3$  in 50 ml Wasser zugetropft. Daraufhin wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen und die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, 5%iger  $\text{KHSO}_4$ -Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch Chromatographie an Kieselgel gereinigt (20 g Kieselgel 60, Eluent: Essigester/Petrolether 1:2). Die Titelverbindung wird dabei als farbloser Schaum isoliert. Ausbeute: 0,75 g; DC (Essigester/Petrolether 1:2)  $R_f = 0,4$ ; HPLC  $t_R = 12,1\text{ min}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta = 1.35$  (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 3.30 (m, 1H,  $\beta_2\text{CH}_2$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 3.47 (m, 1H,  $\beta_1\text{CH}_2$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 3.69 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.96 (d, 2H,  $J = 6.1\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 5.22 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 6.96–7.16 (2 m, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.21 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$  Phe(3- $\text{H}_2\text{NCH}_2$ )), 7.84 (s, 4H, Pht); ESI-MS:  $m/z = 439,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$ : 438,17.

**A14. H-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe×HCl**

In 50 ml Methanol werden 1,46 ml (25,5 mmol) Eisessig, sowie 1,24 g (25,5 mmol) Hydrazinhydrat vorgelegt, Pht-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe (3,72 g, 8,49 mmol, A13) unter Rühren zugesetzt und die Reaktionslösung auf 50 °C erwärmt. Nach 8 h werden nochmal 3 Äquivalente (25,5 mmol) Hydraziniumacetat zugesetzt und das Reaktionsgemisch weiterhin auf 50 °C gehalten. Nach 16 h wird das Reaktionsgemisch im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeeengt, das ausgefallenen Phthalhydrazid abzentrifugiert, die Methanolphase eingeeengt, das erhaltene Öl in Wasser gelöst und der erneut gebildete Niederschlag abzentrifugiert. Durch Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  wird der pH-Wert der Wasserphase auf ca. 10 eingestellt, mit Chloroform (5-mal 100ml) extrahiert, die vereinigten Chloroformphasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Das erhaltene Öl wird in Methanol gelöst, der pH-Wert mit 6N HCl in Dioxan auf ca. 3 eingestellt und eingeeengt. Die Titelverbindung wird dann durch Umfällen aus Isopropanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver gewonnen. Ausbeute: 1.90 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,4$ ; HPLC  $t_R = 7,5\text{ min}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta = 1.39$

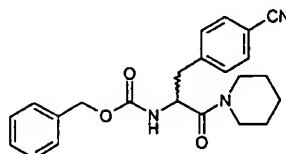
(s, 9H,  $C(CH_3)_3$ ), 3.05 (m, 1H,  $\beta_2CH_2$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 3.17 (m, 1H,  $\beta_1CH_2$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 3.66 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 4.11 (d, 2H,  $J = 5.9$  Hz,  $CH_2NHBOC$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 4.23 (m, 1H,  $\alpha CH$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 7.04–7.31 (3 m, 4H,  $C_6H_4$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 7.35 (m, 1H,  $CH_2NHBOC$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )), 8.61 (br s, 3H,  $\alpha NH_3$  Phe(3- $H_2NCH_2$ )); ESI-MS:  $m/z = 309,4$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{16}H_{24}N_2O_4$ : 308,17.

**A15. Z-DLPhe(4-CN)-OH**



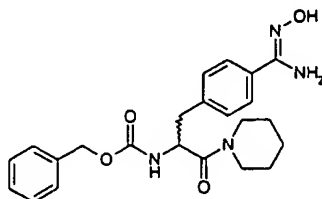
2,00 g (11,3 mmol) H-DLPhe(4-CN)-OH werden in 20 ml Dioxan suspendiert, mit 11,3 ml 1N Natronlauge neutralisiert und schließlich unter Rühren mit Z-OSu (3,39 g, 13,6 mmol) versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum bis auf ein kleines Volumen abgezogen, mit 5%iger  $KHSO_4$ -Lösung angesäuert, mit Essigester extrahiert, die Essigesterphase mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Die geschützte Aminosäure wird schließlich durch Fällung aus Essigester/Petrolether in Form farbloser Kristalle isoliert. Ausbeute: 3,26 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,3$ ; ESI-MS:  $m/z = 325,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{18}H_{16}N_2O_4$ : 324,11.

**A16. Z-DLPhe(4-CN)-Pip**



Z-DLPhe(4-CN)-OH (3,00 g, 10,81 mmol, A15) und 1,15 ml (11,60 mmol) Piperidin werden in 100 ml  $CHCl_3$  gelöst und unter Verwendung von EDC (2,22 g, 11,60 mmol)/HOBt (1,46 g, 10,81 mmol) im Eisbad gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der ölige Rückstand mit Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit 5%iger  $KHSO_4$ -Lösung, 5%iger  $NaHCO_3$ -Lösung und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und schließlich über  $NaSO_4$  getrocknet. Die Titelverbindung wird in Form eines farblosen Pulvers durch zweimaliges Umfällen aus Essigester/Petrolether isoliert. Ausbeute: 2,41 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Acetonitril 10:25:10)  $R_f = 0,6$ ; ESI-MS:  $m/z = 392,0$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{23}H_{25}N_3O_3$ : 391,18.

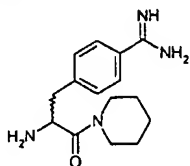
**A17. Z-DLPhe(4- $H_2N(HON=)C$ )-Pip**



Z-DLPhe(4-CN)-Pip (1,00 g, 2,55 mmol, A16), Hydroxylamin-hydrochlorid (0,27 g, 3,82 mmol) und DIEA (0,66 ml, 3,82 mmol) werden in 20 ml Ethanol suspendiert und im Ölbad unter Rückfluß erhitzt, wobei sich nach kurzer Zeit ein farbloser Niederschlag bildet. Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch im

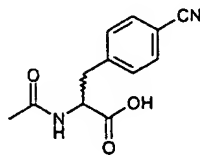
Eisbad gekühlt, der Niederschlag abgefrittet, wenig mit kaltem Ethanol und schließlich mit Diisopropylether und Petrolether gewaschen, wobei das Hydroxyamidin als farbloses Pulver erhalten wird. Ausbeute: 0,90 g; DC (Essigester/*n*-Butanol/Eisessig/Wasser 5:3:1:1)  $R_f = 0,75$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.20\text{--}1.60$  (3 br m, 6H,  $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2$  Pip), 2.76–2.95 (2 m, 2H,  $\beta\text{CH}_2$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HON=C)}$ )), 3.30–3.50 (2 br m, 4H  $2\times\text{N-CH}_2$  Pip), 4.66 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HON=C)}$ )), 4.96 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{--C}_6\text{H}_5$ ), 5.72 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.20–7.37, 7.55–7.63 (2 m, 10H,  $\alpha\text{NH}$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HON=C)}$ ),  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HON=C)}$ ),  $\text{CH}_2\text{--C}_6\text{H}_5$ ), 9.55 (s, 1H, N-OH); ESI-MS:  $m/z = 425,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ : 424,21.

**A18. H-DLPhe(4- $\text{H}_2\text{N(HN=C)}$ )-Pip $\times 2$  HCl**

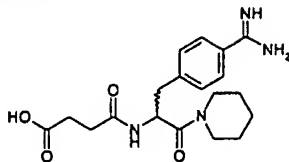


Z-DLPhe(4- $\text{H}_2\text{N(HON=C)}$ )-Pip (0,70 g, 1,65 mmol, A17) werden in 60 ml HOAc/EtOH (1:2) suspendiert und in Gegenwart von 100 mg 10% Pd-C der bei RT der Hydrogenolyse unterzogen ( $p(\text{H}_2) = 1$  bar), wobei nach ca. 30 min das Material vollständig in Lösung geht. Nach 16 h wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand 3-mal mit Toluol behandelt. Das erhaltene Material wird dann zweimal in wenig MeOH gelöst, mit 1 ml 6N HCl in Dioxan versetzt und eingengt. Das *bis*-Hydrochlorid wird durch Fällung aus MeOH/Dioxan als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,52 g; DC (Chloroform/Methanol/25% Ammoniak 12:9:4)  $R_f = 0,35$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.05$ , 1.30–1.60 (2 br m, 6H,  $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2$  Pip), 2.97–3.54 (5 m, 6H,  $\beta\text{CH}_2$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HN=C)}$ ),  $2\times\text{N-CH}_2$  Pip, partielle Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4.70 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HN=C)}$ )), 7.48, 7.88 (2 d, 4H,  $J = 8.0$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HN=C)}$ )), 8.45 (br s, 3H,  $\text{NH}_3$  Phe(4- $\text{H}_2\text{N(HN=C)}$ )), 9.32, 9.50 (2 s, 4H,  $\text{H}_2\text{N(H}_2\text{N=C)}$ ); ESI-MS:  $m/z = 275,0$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ : 274,17.

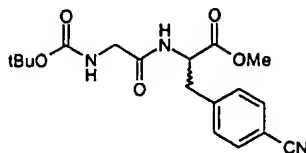
**A19. Ac-DLPhe(4-CN)-OH**



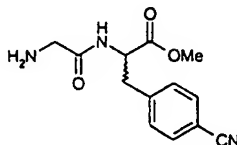
2,58 g (14,6 mmol) H-DLPhe(4-CN)-OH werden in 50 ml DMF suspendiert, mit Pyridin (1,17 m, 14,6 mmol) neutralisiert und schließlich unter Eisbadkühlung und Rühren mit Essigsäureanhydrid (1,66 ml, 17,5 mmol) versetzt. Nach 1 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, der ölige Rückstand mit Essigester aufgenommen, mit 5%iger  $\text{KHSO}_4$ -Lösung angesäuert, die wässrige Phase mit Essigester extrahiert (3-mal), die vereinigten Essigesterphasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingengt. Die Titelverbindung wird durch Fällung aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 2.73 g, DC (Essigester/*n*-Butanol/Eisessig/Wasser 5:3:1:1)  $R_f = 0,7$ ; ESI-MS:  $m/z = 233,0$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ : 232,08.

A20. HO<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N(HN=C))-Pip×HCl

H-DLPhe(4-H<sub>2</sub>N(HN=C))-Pip×2 HCl (0,50 g, 1,44 mmol, A18) und 0,248 ml DIEA werden in 2 ml DMF vorgelegt und dann unter Rühren mit 0,17 g (1,73 mmol) Bernsteinsäureanhydrid gelöst in 1 ml DMF versetzt. Nach 16 h wird das Solvens im Hochvakuum abgezogen, der ölige Rückstand in 40 ml Wasser gelöst, mit 1 N HCl angesäuert und die wässrige Phase 10-mal mit 15 ml Butanol extrahiert. Die vereinigten Butanolphasen werden einrotiert und 2-mal mit Toluol behandelt. Die Titelverbindung wird durch Fällung aus MeOH/Essigester als fast farbloses Pulver erhalten. Ausbeute: 0,43 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5) *R<sub>f</sub>* = 0,2; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ=1.20–1.60 (3 br m, 6H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> Pip), 2.21–2.38 (br m, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H), 2.86, 3.05 (2 m, 2H, βCH<sub>2</sub> Phe(4-NH<sub>2</sub>(HN=C))), 3.20–3.61 (br m, 4H, 2×N-CH<sub>2</sub> Pip, Überlappung mit dem Wassersignal des DMSO), 4.96 (m, 1H, αCH Phe(4-NH<sub>2</sub>(HN=C))), 7.45, 7.75 (2 d, 4H, *J* = 8 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-NH<sub>2</sub>(HN=C))), 8.35 (d, 1H, *J* = 8 Hz, αNH Phe(4-NH<sub>2</sub>(HN=C))), 9.12, 9.30 (2 s, 4H, H<sub>2</sub>N(H<sub>2</sub>N=C)), 12.05 (br s, 1H, CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H); ESI-MS: *m/z* = 375,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 374,19.

A21. BOC-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe

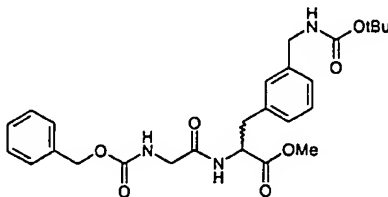
H-DLPhe(4-CN)-OH×HCl (1,50 g, 6,23 mmol) und BOC-Gly-OH (1,31 g, 7,47 mmol) sowie DIEA (1,07 ml, 6,23 mmol) werden in 50 ml Chloroform vorgelegt und unter Verwendung von EDC (1,43 g, 7,47 mmol)/HOBt (1,01 g, 7,47 mmol) unter Eisbadkühlung gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger KHSO<sub>4</sub>-Lösung, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Die Titelverbindung wird aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 2,02 g; DC (Chloroform/Methanol 9:1) *R<sub>f</sub>* = 0,6; ESI-MS: *m/z* = 384,2 [M+Na]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: 361,16.

A22. H-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe×HCl

BOC-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe (2,02 g, 5,57 mmol) werden in 50 ml 95%iger Trifluoressigsäure gelöst und unter Eisbadkühlung der Spaltung unterzogen. Nach 3 h wird die Säure im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Methanol gelöst mit 6N HCl in Dioxan versetzt, eingeeengt und mehrfach mit Toluol behandelt. Die Titelverbindung wird aus Isopropanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert.

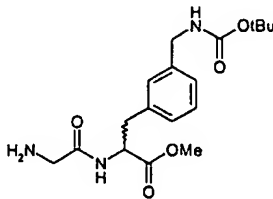
Ausbeute: 1.59 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,2$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 3.02$  (m, 1H,  $\beta_2\text{CH}_2$  Phe(4-CN)), 3.16 (m, 1H,  $\beta_1\text{CH}_2$  Phe(4-CN)), 3.52 (m, 2H,  $\alpha\text{CH}_2$  Gly), 3.63 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.62 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(4-CN)), 7.47 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(4-CN)), 7.76 (d, 2H,  $J = 8.2$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(4-CN)), 8.12 (br s, 3H,  $\alpha\text{NH}_3$  Gly), 9.06 (d, 1H,  $J = 7.9$  Hz,  $\alpha\text{NH}$  Phe(4-CN)); ESI-MS:  $m/z = 262,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ : 261,11.

**A23. Z-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**



H-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl (0,70 g, 2,03 mmol, A14) werden in 30 ml Chloroform gelöst mit DIEA (0,35 ml, 2,03 mmol) neutralisiert und mit 0,80 g (2,63 mmol) Z-Gly-OSu versetzt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase der Reihe nach mit 5%iger  $\text{KHSO}_4$ -Lösung, 5%iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (80 g Kieselgel, Eluent: Essigester/Petrolether 4:1) gereinigt. Die Titelverbindung wird dabei als farbloser Schaum isoliert. Ausbeute: 0,90 g; DC (Chloroform/Methanol 9:1)  $R_f = 0,8$ ; DC (Essigester/Petrolether 4:1)  $R_f = 0,6$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.38$  (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.90 (m, 1H,  $\beta_2\text{CH}_2$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 2.98 (m, 1H,  $\beta_1\text{CH}_2$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 3.54–3.69 (m, 5H,  $\alpha\text{CH}_2$  Gly,  $\text{OCH}_3$ ), 4.10 (d, 2H,  $J = 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 4.46 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 5.02 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.01–7.42 (3 m, 11H,  $\alpha\text{NH}$  Gly,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>),  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>),  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 8.29 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz,  $\alpha\text{NH}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)); ESI-MS:  $m/z = 500,4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; ber. für  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$ : 499,23.

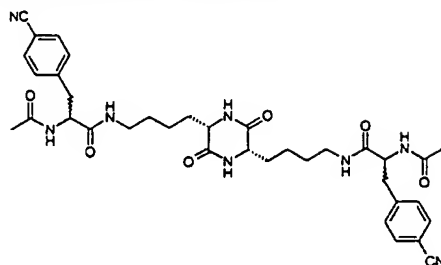
**A24. H-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl**



Z-Gly-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe (0,77 g, 1,53 mmol, A23) werden in 200 ml Methanol gelöst und der Hydrogenolyse (10%Pd-C,  $p(\text{H}_2) = 1\text{bar}$ ) unterzogen. Nach 5 h wird der Katalysator abfiltriert, der pH-Wert mit 6N HCl in Dioxan auf 4 eingestellt und eingeeengt. Die Titelverbindung wird aus Isopropanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,55 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,3$ ; HPLC  $t_R = 7,7$  min;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 1.39$  (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.91 (m, 1H,  $\beta_2\text{CH}_2$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 3.03 (m, 1H,  $\beta_1\text{CH}_2$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 3.55 (m, 2H,  $\alpha\text{CH}_2$  Gly), 3.62 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.10 (d, 2H,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 4.53 (m, 1H,  $\alpha\text{CH}$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7.03–7.14, 7.24 (2 m, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$  Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7.35 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{NHBOC}$

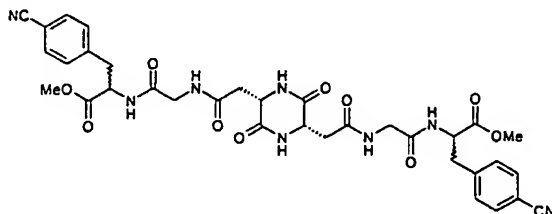
Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 8.13 (br s, 3H, αNH<sub>3</sub> Gly), 8.94 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz, αNH Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)); ESI-MS: *m/z* = 366,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: 365,19.

**A25. Ac-DLPhe(4-CN)-c[Lys-Lys]-DLPhe(4-CN)-Ac**



c[Lys(NH<sub>2</sub>)Lys(NH<sub>2</sub>)]×2HCl (250,0 mg, 0,76 mmol, A10) gelöst in 20 ml DMF/Wasser (3:1) werden mit DIEA (0,26 ml, 1,52 mmol) neutralisiert, 423,2 mg (1,82 mmol) Ac-DLPhe(4-CN)-OH (A19) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (349,2 mg, 1,82 mmol)/ HOBt (246,2 mg, 1,82 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (18 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus dem System Methanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 327 mg; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5) *R<sub>f</sub>* = 0,3; DC (Chloroform/Methanol 4:1) *R<sub>f</sub>* = 0,4; HPLC *t<sub>R</sub>* = 6,3 min; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.21–1.40, 1.55–1.73 (2 br m, 12H, 2×βCH<sub>2</sub> Lys, 2×γCH<sub>2</sub> Lys, 2×δCH<sub>2</sub> Lys), 1.75 (s, 6H 2×C(O)CH<sub>3</sub>), 2.82, 2.93–3.07 (2 m, 8H, 2×βCH<sub>2</sub> Phe(4-CN), 2×εCH<sub>2</sub> Lys), 3.77 (m, 2H, 2×αCH<sub>2</sub> Lys), 4.47 (m, 2H, 2×αCH<sub>2</sub> Phe(4-CN)), 7.41 (d, 4H, *J* = 8.1 Hz, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-CN)), 7.73 (d, 4H, *J* = 8.1 Hz, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-CN)), 7.95 (m, 2H, 2×εNH Lys), 8.05 (s, 2H, 2×αNH Lys), 8.10 (m, 2H, 2×αNH Phe(4-CN)); ESI-MS: *m/z* = 707,6 [M+Na]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>36</sub>H<sub>44</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>: 684,33.

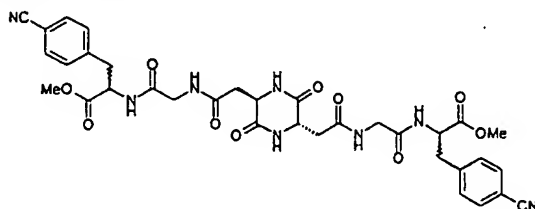
**A26. MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe**



H-Gly-DLPhe(4-CN)-MeO×HCl (0,62 g, 2,09 mmol, A22) gelöst in 20 ml DMF wurden mit DIEA (0,36 ml, 2,09 mmol) neutralisiert, c[Asp(OH)-Asp(OH)] (0,20 g, 0,87 mmol, A4) zugesetzt und in Gegenwart von PyBOP (1,08 g, 2,09 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (100 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus Methanol/*tert*-Butylmethylether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,43 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1) *R<sub>f</sub>* = 0,6; HPLC *t<sub>R</sub>* = 7,9 min; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 2.54, 2.71, 2.96–3.06, 3.08–3.17 (4m, 8H, 2×βCH<sub>2</sub> Phe(4-CN), 2×βCH<sub>2</sub> Asp), 3.52–3.78 (br m, 4H, 2×αCH<sub>2</sub> Gly), 3.59 (s, 6H, 2×OCH<sub>3</sub>), 4.28 (m, 2H, 2×αCH Asp), 4.53 (m, 2H, 2×αCH Phe(4-CN)), 7.37–7.45, 7.70–7.76 (2 m, 8H, 2×C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-

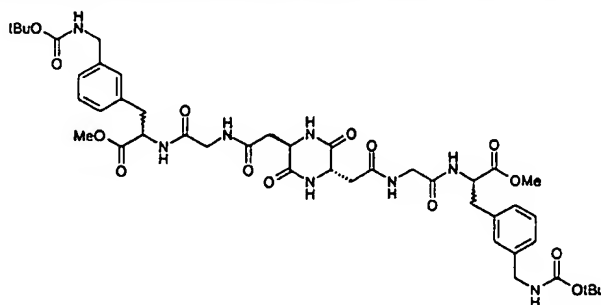
CN)), 7.95–8.03, 8.21–8.40 (2 br m, 6H, 2 $\times$  $\alpha$ NH Asp, 2 $\times$  $\alpha$ NH Gly, 2 $\times$  $\alpha$ NH Phe(4-CN)); ESI-MS:  $m/z$  = 717,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>: 716,25.

**A27. MeO-DLPhe(4-CN)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(4-CN)-OMe**



H-Gly-DLPhe(4-CN)-MeO $\times$ HCl (0,62 g, 2,09 mmol, A22) gelöst in 20 ml DMF werden mit DIEA (0,36 ml, 2,09 mmol) neutralisiert, c[DAsp(OH)-Asp(OH)] (0,20 g, 0,87 mmol, A7) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,40 g, 2,09 mmol)/HOBt (0,23 g, 1,74 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, Methanol zugesetzt, kurz sonifiziert, der farblose Niederschlag abzentrifugiert, der Reihe nach mit Methanol, *tert*-Butylmethylether sowie Petrolether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Titelverbindung wird als farbloses Pulver erhalten. Ausbeute: 0,50 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f$  = 0,3; HPLC  $t_R$  = 8,6 min; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 2.52–2.70, 2.95–3.05, 3.09–3.17 (3 m, 8H, 2 $\times$  $\beta$ CH<sub>2</sub> Phe(4-CN), 2 $\times$  $\beta$ CH<sub>2</sub> Asp), 3.56–3.75 (br m, 4H, 2 $\times$  $\alpha$ CH<sub>2</sub> Gly), 3.60 (s, 6H, 2 $\times$ OCH<sub>3</sub>), 4.16 (m, 2H, 2 $\times$  $\alpha$ CH Asp), 4.53 (m, 2H, 2 $\times$  $\alpha$ CH Phe(4-CN)), 7.38–7.45, 7.70–7.77 (2 m, 8H, 2 $\times$ C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(4-CN)), 7.95, 8.24, 8.37 (3 m, 6H, 2 $\times$  $\alpha$ NH Asp, 2 $\times$  $\alpha$ NH Gly, 2 $\times$  $\alpha$ NH Phe(4-CN)); ESI-MS:  $m/z$  = 717,4  $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>: 716,25.

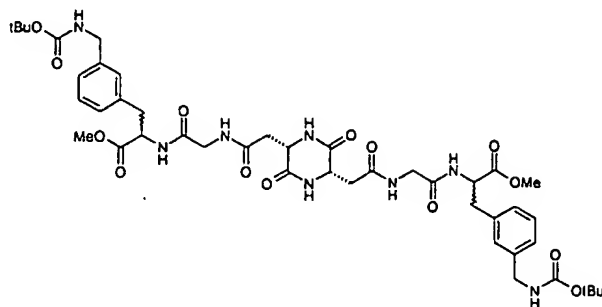
**A28. MeO-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Asp]-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe**



H-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe $\times$ HCl (0,21 g, 0,52 mmol, A14) gelöst in 15 ml DMF werden mit DIEA (0,09 ml, 0,52 mmol) neutralisiert, c[DAsp(OH)-Asp(OH)] (0,05 g, 0,22 mmol, A7) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,10 g, 0,52 mmol)/HOBt (0,06 g, 0,43 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (20 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung mit Essigester als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,13 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f$  = 0,6; HPLC  $t_R$  = 10,2 min; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 1.38 (s, 18H, 2 $\times$ C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.51–2.70, 2.86–3.02 (2 br m, 8H, 2 $\times$  $\beta$ CH<sub>2</sub> Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2 $\times$  $\beta$ CH<sub>2</sub> Asp), 3.57 (s, 6H, 2 $\times$ OCH<sub>3</sub>), 3.60–3.80 (br m, 4H, 2 $\times$  $\alpha$ CH<sub>2</sub> Gly), 4.10 (m, 4H, 2 $\times$ CH<sub>2</sub>NHBOC Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 4.16 (m, 2H, 2 $\times$  $\alpha$ CH Asp), 4.30 (m, 2H, 2 $\times$  $\alpha$ CH Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7.02–7.11, 7.19–7.25 (2 m, 8H, 2 $\times$ C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)),

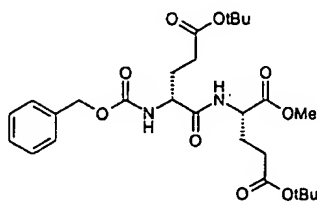
7.32 (m, 2H, 2×CH<sub>2</sub>NH/BOC Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)), 7.92, 8.17–8.82, 8.34 (3 m, 6H, 2×αNH Asp, 2×αNH Gly, 2×αNH Phe(3-H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>)); ESI-MS:  $m/z$  = 925,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>44</sub>H<sub>60</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub>: 924,42.

**A29. MeO-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[Asp-Asp]-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe**



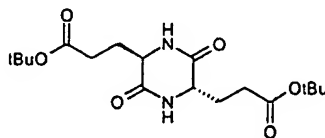
H-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe×HCl (0,125 g, 0,312 mmol, A14) gelöst in 10 ml DMF werden mit DIEA (0,054 ml, 0,312 mmol) neutralisiert, c[Asp(OH)-Asp(OH)] (0,030 g, 0,130 mmol, A4) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,059 g, 0,312 mmol)/HOBt (0,042 g, 0,312 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittelgemisch im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (20 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällung aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,103 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1) R<sub>f</sub> = 0,7; HPLC t<sub>R</sub> = 10,5 min; ESI-MS:  $m/z$  = 925,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>44</sub>H<sub>60</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub>: 924,42.

**A30. Z-DGlu(OtBu)-Glu(OtBu)-OMe**



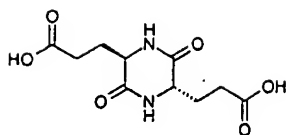
Die Verbindung wird analog A5 aus Z-DGlu(OtBu)-OH und H-Glu(OtBu)-OMe×HCl dargestellt. Ausbeute: 4,47 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10) R<sub>f</sub> = 0,6; HPLC t<sub>R</sub> = 10,8 min; ESI-MS:  $m/z$  = 537,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: 536,27.

**A31. c[DGlu(OtBu)-Glu(OtBu)]**

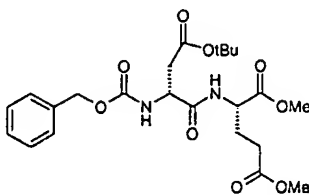


Die Verbindung wird analog A6 aus A30 dargestellt. Ausbeute: 2,12 g; DC (Essigester) R<sub>f</sub> = 0,6; HPLC t<sub>R</sub> = 7,9 min; ESI-MS:  $m/z$  = 371,2 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: 370,21.

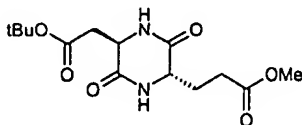


A32. c[DGLu(OH)-Glu(OH)]

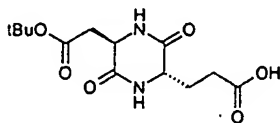
Die Verbindung wird analog A7 aus A31 dargestellt. Ausbeute: 1,38 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,6$ ; ESI-MS:  $m/z = 259,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{10}H_{14}N_2O_6$ : 258,08.

A33. Z-DAsp(OtBu)-Glu(OMe)-OMe

Die Verbindung wird analog A5 aus Z-DAsp(OtBu)-OH und H-Glu(OMe)-OMe·HCl dargestellt. Ausbeute: 5,80 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10)  $R_f = 0,3$ ; HPLC  $t_R = 9,7$  min; ESI-MS:  $m/z = 481,4$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{23}H_{32}N_2O_9$ : 480,21.

A34. c[DAsp(OtBu)-Glu(OMe)]

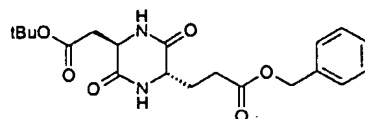
Die Verbindung wird analog A6 aus A33 dargestellt. Ausbeute: 3,16 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,8$ ; HPLC  $t_R = 4,6$  min; ESI-MS:  $m/z = 315,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{14}H_{22}N_2O_6$ : 314,14.

A35. c[DAsp(OtBu)-Glu(OH)]

Zu einer Lösung von c[DAsp(OtBu)-Glu(OMe)] (2,50 g, 7,95 mmol, A34) in 220 ml THF/Wasser (10:1) werden 80 ml 0,1 N Natronlauge langsam unter Rühren zugetropft. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der erhaltene Feststoff in Methanol gelöst, mit *tert*-Butylmethylether versetzt, das ausgefallene Natriumsalz der Titelverbindung abgefrittet, mit *tert*-Butylmethylether und Petrole-

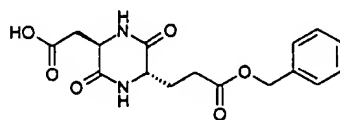
ther gewaschen und im Vakuum bei 40 °C getrocknet. Um die freie Säure zu erhalten, wird das Natriumsalz in 150 ml THF/Wasser (1:2) gelöst und mit Amberlyst 15 behandelt, bis der pH-Wert ca. 3 beträgt. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt. Die Titelverbindung wird aus Essigester/Petrolether als farbloses, feinkristallines Material isoliert. Ausbeute: 1,52 g; DC (Chloroform/Methanol/Eisessig 8:8:1)  $R_f = 0,9$ ; HPLC  $t_R = 2,6$  min; ESI-MS:  $m/z = 301,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{13}H_{20}N_2O_6$ : 300,13.

**A36. c[DAsp(OtBu)-Glu(OBn)]**

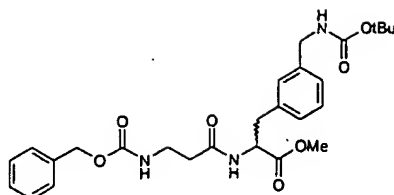


Zu einer Lösung von c[DAsp(OtBu)-Glu(OH)] (1,20 g, 3,99 mmol, A35) in 60 ml Methanol/Wasser (5:1) wird portionsweise  $Cs_2CO_3$  (1,30 g, 3,99 mmol) gelöst in 20 ml Wasser zugesetzt, bis der pH-Wert ca. 7–8 beträgt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgezogen und der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt. Das erhaltene Cs-Salz wird in 100 ml DMF suspendiert und unter Rühren mit Benzylbromid (0,52 ml, 4,39 mmol) versetzt, wobei sich das Salz allmählich löst. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der erhaltene Feststoff mit Wasser digeriert, abgefrittet, mit reichlich Wasser gewaschen, erneut in Methanol gelöst, einrotiert und mit Toluol (3-mal) behandelt. Die Titelverbindung wird aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,89 g; DC (Essigester)  $R_f = 0,4$ ; HPLC  $t_R = 9,7$  min; ESI-MS:  $m/z = 391,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{20}H_{26}N_2O_6$ : 390,17.

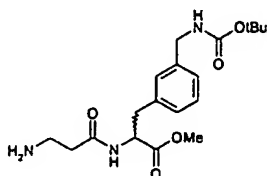
**A37. c[DAsp(OH)-Glu(OBn)]**



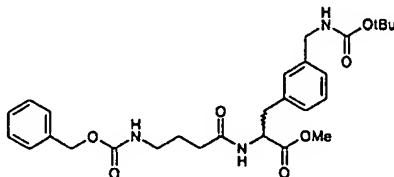
c[DAsp(OH)-Glu(OBn)] (0,50 g, 1,28 mmol, A36) werden in 40 ml Chloroform gelöst und unter Rühren und Eisbadkühlung mit 10 ml konz. Trifluoressigsäure versetzt. Nach 24 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt, in Essigester suspendiert, abgefrittet mit Essigester und Petrolether gewaschen und im Vakuum bei 40 °C getrocknet. Die Titelverbindung wird dabei als farbloses Pulver erhalten. Ausbeute: 0,40 g; DC (Essigester)  $R_f = 0,8$ ; HPLC  $t_R = 7,9$  min; ESI-MS:  $m/z = 335,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{16}H_{18}N_2O_6$ : 334,11.

**A38. Z-β-Ala-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

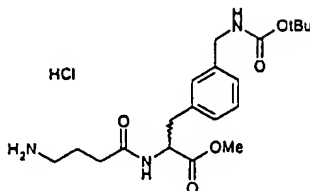
H-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl (0,50 g, 1,45 mmol, A14) gelöst in 30 ml Chloroform werden mit DIEA (0,19 ml, 1,45 mmol) neutralisiert, Z-β-Ala-OH (0,40 g, 1,74 mmol) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,33 g, 1,74 mmol)/HOBt (0,24 g, 1,74 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, das Öl in Essigester aufgenommen, die Essigesterphase mit 5%iger KHSO<sub>4</sub>-Lösung, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. Kochsalzlösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und einrotiert. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel chromatographiert (130 g Kieselgel 60, Eluent: Essigester/Petrolether 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällern aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,58 g; DC (Chloroform/Methanol 9:1) R<sub>f</sub> = 0,4; HPLC t<sub>R</sub> = 13,9 min; ESI-MS: *m/z* = 514,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: 513,24.

**A39. H-β-Ala-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl**

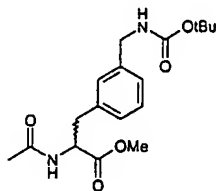
Die Verbindung wird durch Entschützen analog A24 aus A38 dargestellt. Ausbeute: 0,30 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5) R<sub>f</sub> = 0,3; ESI-MS: *m/z* = 380,2 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: 379,21.

**A40. Z-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

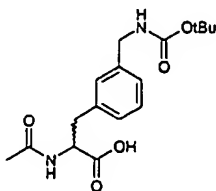
Die Verbindung wird analog A38 aus A14 und Z-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-COOH dargestellt. Ausbeute: 1,29 g; DC (Essigester/Petrolether 4:1) R<sub>f</sub> = 0,4; ESI-MS: *m/z* = 528,4 [M+H]<sup>+</sup>; ber. für C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: 527,26.

**A41. H<sub>2</sub>N-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl**

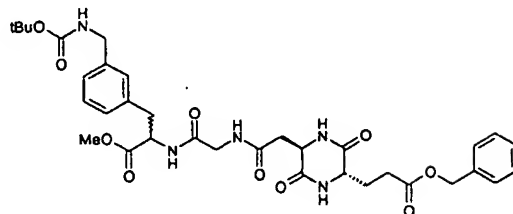
Die Verbindung wird durch Entschützen analog A24 aus A40 dargestellt. Ausbeute: 0,98 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,3$ ; ESI-MS:  $m/z = 394,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: 393,22.

**A42. Ac-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

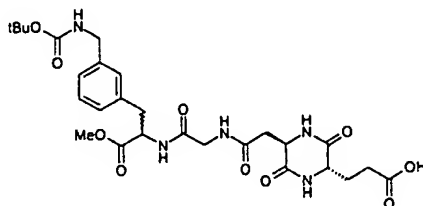
H-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl (1,00 g, 2,89 mmol, A14) werden in 25 ml Chloroform suspendiert und durch Zusatz von DIEA (0,50 ml, 2,89 mmol) gelöst. Unter Rühren werden dann Ac<sub>2</sub>O (0,36 ml, 3,76 mmol) und DIEA (0,65 ml, 3,76 mmol) zugesetzt. Nach 3 h wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, das erhaltene Öl in Essigester gelöst, die Essigesterphase mit 5%iger KHSO<sub>4</sub>-Lösung, 5%iger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und ges. Kochsalzlösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und einrotiert. Die Titelverbindung wird als farbloses Öl erhalten. Ausbeute: 1,00 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,9$ ; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10)  $R_f = 0,2$ ; ESI-MS:  $m/z = 351,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 350,18.

**A43. Ac-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OH**

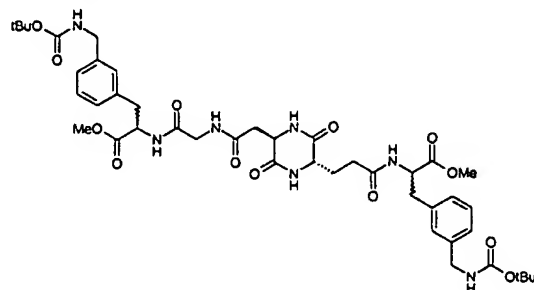
Zu einer Lösung von Ac-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe (1,00 g, 2,85 mmol, A42) in 50 ml THF werden unter Rühren 28,0 ml 0,1 N Natronlauge zugetropft. Nach 16 h wird die Reaktionslösung mit Amberlyst 15 behandelt, bis der pH-Wert ca. 3 beträgt, dann der Ionenaustauscher abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand mit Toluol (3-mal) behandelt. Die Titelverbindung wird aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,74 g; DC (Cyclohexan/Chloroform/Eisessig 45:45:10)  $R_f = 0,1$ ; HPLC  $t_R = 5,9$  min; ESI-MS:  $m/z = 337,0$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 336,16.

**A44. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Glu(OBn)]**

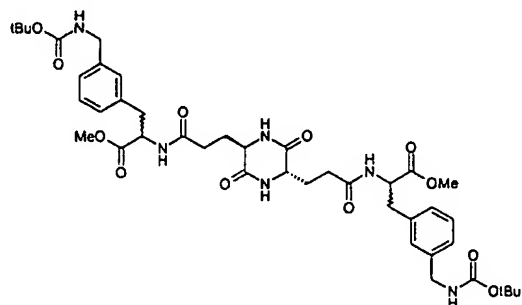
H-Gly-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl (0,26 g, 0,66 mmol, A24) gelöst in 15 ml DMF werden mit DIEA (0,11 ml, 0,66 mmol) neutralisiert, c[DAsp(OH)-Glu(OBn)] (0,20 g, 0,60 mmol, A37) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (0,13 g, 0,66 mmol)/HOBT (0,08 g, 0,60 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (100 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 4:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällen aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,23 g; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,8$ ; HPLC  $t_R = 10,5$  min; ESI-MS:  $m/z = 682,4$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>34</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>: 681,30.

**A45. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Glu(OH)]**

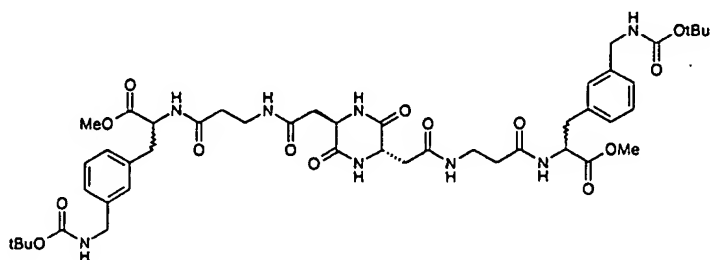
MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Glu(OBn)] (0,18 g, 0,27 mmol, A44) werden in 75 ml Essigester gelöst und der Hydrogenolyse (10% Pd-C,  $p(H_2) = 1$  bar) unterzogen. Nach 36 h wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Die Titelverbindung fällt dabei als farbloses Pulver an. Ausbeute: 0,09 g; DC (Chloroform/Methanol/Wasser 14:6:1)  $R_f = 0,4$ ; HPLC  $t_R = 8,7$  min; ESI-MS:  $m/z = 592,2$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>: 591,25.

**A46. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Glu]-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

H-DLPhe(3-BOC-HN-CH<sub>2</sub>)-OMe·HCl (48 mg, 0,139 mmol, A14) gelöst in 10 ml DMF werden mit DIEA (24 µL, 0,139 mmol) neutralisiert, MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Gly-c[DAsp-Glu] (75 mg, 0,126 mmol, A45) zugesetzt und in Gegenwart von EDC (27 mg, 0,139 mmol)/HOBt (17 mg, 0,126 mmol) gekuppelt. Nach 16 h wird das Lösungsmittel im Hochvakuum abgezogen, das erhaltene Rohprodukt an Kieselgel chromatographiert (20 g Kieselgel 60, Eluent: Chloroform/Methanol 9:1) und die Titelverbindung schließlich durch Fällern aus Essigester/Petrolether als farbloses Pulver isoliert. Ausbeute: 70 mg; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,7$ ; HPLC  $t_R = 10,7$  min; ESI-MS:  $m/z = 882,6$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>43</sub>H<sub>59</sub>N<sub>7</sub>O<sub>13</sub>: 881,41.

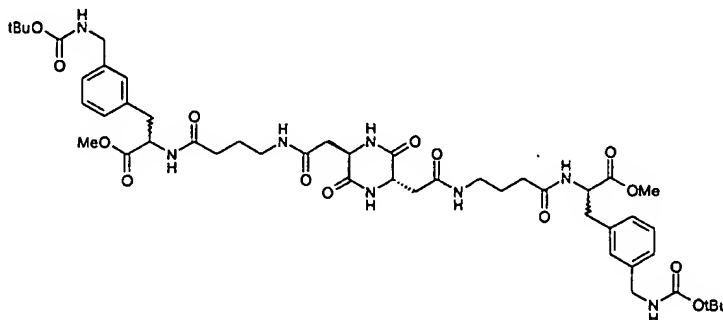
**A47. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-c[DGLu-Glu]-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

Die Verbindung wird analog A28 aus A14 und A32 dargestellt. Ausbeute: 0,62 g; DC (Chloroform/Methanol 9:1)  $R_f = 0,5$ ; HPLC  $t_R = 9,6$  min; ESI-MS:  $m/z = 839,6$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>42</sub>H<sub>58</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>: 838,41.

**A48. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-β-Ala-c[DAsp-Asp]-β-Ala-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

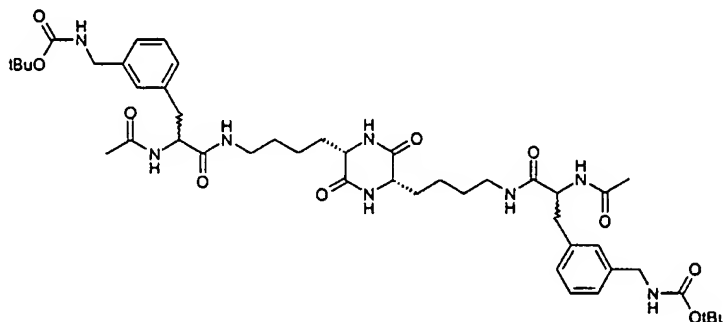
Die Verbindung wird analog A28 aus A7 und A39 dargestellt. Ausbeute: 88 mg; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,6$ ; HPLC  $t_R = 12,9$  min; ESI-MS:  $m/z = 953,4$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{46}H_{64}N_8O_{14}$ : 952,45.

**A49. MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-c[DAsp-Asp]-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe**

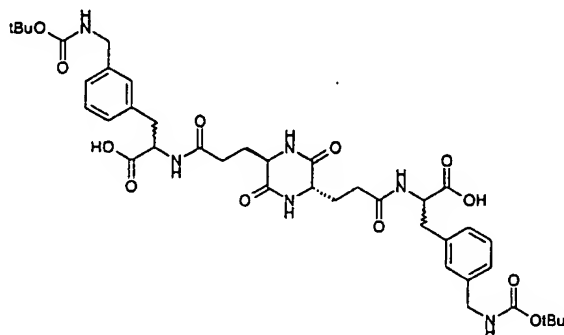


Die Verbindung wird analog A28 aus A7 und A41 dargestellt. Ausbeute: 131 mg; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,6$ ; HPLC  $t_R = 10,5$  min; ESI-MS:  $m/z = 981,6$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{48}H_{68}N_8O_{14}$ : 980,48.

**A50. Ac-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-c[Lys-Lys]-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-Ac**



Die Verbindung wird analog A25 aus A10 und A43 dargestellt. Ausbeute: 135 mg; DC (Chloroform/Methanol 4:1)  $R_f = 0,6$ ; HPLC  $t_R = 6,7$  min; ESI-MS:  $m/z = 893,6$   $[M+H]^+$ ; ber. für  $C_{46}H_{68}N_8O_{10}$ : 892,50.

A51. HO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-c[DGLu-Glu]-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OH

Zu einer Lösung von MeO-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-c[DGLu-Glu]-DLPhe(3-BOC-NH-CH<sub>2</sub>)-OMe (0,15 g, 0,18 mmol, A47) in 7,5 ml THF werden unter Rühren 0,39 ml 1 N Natronlauge in 4 Portionen zuge-  
setzt. Nach 16 h wird die Reaktionslösung mit Amberlyst 15 behandelt, bis der pH-Wert ca. 3 beträgt,  
dann der Ionenaustauscher abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand  
mit Toluol (3-mal) behandelt. Die Titelverbindung wird aus Methanol/*tert*-Butylmethylether als farblo-  
ses Pulver isoliert. Ausbeute: 0,12 g; DC (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser/Essigester 3:1:1:5)  $R_f = 0,6$ ;  
HPLC  $t_R = 8,6$  min; ESI-MS:  $m/z = 811,4$   $[M+H]^+$ ; ber. für C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>: 810,37.



### Gewerbliche Anwendbarkeit

Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen als Inhibitoren der Tryptase wertvolle pharmakologische Eigenschaften, die sie gewerblich verwertbar machen. Humane Tryptase ist eine Serinprotease, die in humanen Mastzellen das überwiegend vorliegende Protein darstellt. Tryptase umfaßt acht eng verwandte Enzyme ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1a$ ,  $\beta 1b$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ , mMCP-7-like-1, mMCP-7-like-2; 85 bis 99 % Sequenzidentität) (vgl. Miller et al., J. Clin. Invest. 84 (1989) 1188-1195; Miller et al., J. Clin. Invest. 86 (1990) 864-870; Vanderslice et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 87 (1990) 3811-3815; Pallaoro et al., J. Biol. Chem. 274 (1999) 3355-3362). Nur die  $\beta$ -Tryptasen (Schwartz et al., J. Clin. Invest. 96 (1995) 2702-2710; Sakai et al., J. Clin. Invest. 97 (1996) 988-995) werden jedoch intrazellulär aktiviert und in katalytisch aktiver Form in Sekretgranulen gelagert. Tryptase weist im Vergleich zu anderen bekannten Serinproteasen, wie zum Beispiel Trypsin oder Chymotrypsin einige besondere Eigenschaften auf (Schwartz et al., Methods Enzymol. 244, (1994), 88-100; G. H. Caughey, „Mast cell proteases in immunology and biology“. Marcel Dekker, Inc., New York, 1995). Tryptase aus humanen Gewebe weist eine nicht kovalent verknüpfte tetramere Struktur auf, die durch Heparin oder andere Proteoglycane stabilisiert werden muß, um proteolytisch aktiv zu sein. Tryptase wird zusammen mit anderen Entzündungsmediatoren, wie z. B. Histamin und Proteoglycanen, freigesetzt, wenn humane Mastzellen aktiviert werden. Man vermutet deshalb, daß Tryptase bei einer Reihe von Erkrankungen, insbesondere bei allergischen und entzündlichen Erkrankungen eine Rolle spielt, zum einen aufgrund der Bedeutung der Mastzellen bei solchen Erkrankungen und zum anderen, da bei einer Reihe derartiger Erkrankungen ein erhöhter Tryptase-Gehalt festgestellt wurde. So wird Tryptase u. a. mit folgenden Krankheiten in Zusammenhang gebracht: Akute und chronische (insbesondere entzündliche und allergen induzierte) Atemwegserkrankungen verschiedener Genese (z. B. Bronchitis, allergische Bronchitis, Asthma bronchiale, COPD); interstitielle Lungenerkrankungen; Erkrankungen, die auf allergischen Reaktionen der oberen Atemwege (Rachenraum, Nase) und der angrenzenden Regionen (z. B. Nasennebenhöhlen, Augenbindehäute) beruhen, wie beispielsweise allergische Konjunktivitis und allergische Rhinitis; Erkrankungen aus dem Formenkreis der Arthritis (z. B. rheumatische Arthritis); Autoimmun-Erkrankungen wie Multiple Sklerose; desweiteren Periodontitis, Anaphylaxis, interstitiale Cystitis, Dermatitis, Psoriasis, Sklerodermie/systemische Sklerose, entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Inflammatory Bowel Disease) und andere. Tryptase scheint insbesondere direkt mit der Pathogenese von Asthma in Zusammenhang zu stehen (Caughey, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 16 (1997), 621-628; R. Tanaka, „The role of tryptase in allergic inflammation“ in: Protease Inhibitors, IBC Library Series, 1979, Kapitel 3.3.1-3.3.23).

Weiterer Gegenstand der Erfindung sind die erfindungsgemäßen Verbindungen zur Anwendung bei der Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten, insbesondere den genannten Krankheiten.

Ebenso betrifft die Erfindung die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Krankheiten eingesetzt werden.

Weiterhin sind Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe der genannten Krankheiten, die eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Verbindungen enthalten, Gegenstand der Erfindung.

Die Arzneimittel werden nach an sich bekannten, dem Fachmann geläufigen Verfahren hergestellt. Als Arzneimittel werden die erfindungsgemäßen Verbindungen (= Wirkstoffe) entweder als solche, oder vorzugsweise in Kombination mit geeigneten pharmazeutischen Hilfsstoffen z.B. in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Pflastern, Emulsionen, Suspensionen, Gelen oder Lösungen eingesetzt, wobei der Wirkstoffgehalt vorteilhafterweise zwischen 0,1 und 95 % beträgt.

Welche Hilfsstoffe für die gewünschten Arzneiformulierungen geeignet sind, ist dem Fachmann aufgrund seines Fachwissens geläufig. Neben Lösemitteln, Gelbildnern, Salbengrundlagen und anderen Wirkstoffträgern können beispielsweise Antioxidantien, Dispergiermittel, Emulgatoren, Konservierungsmittel, Lösungsvermittler oder Permeationspromotoren verwendet werden.

Für die Behandlung von Erkrankungen des Respirationstraktes werden die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt auch inhalativ appliziert. Hierzu werden diese entweder direkt als Pulver (vorzugsweise in mikronisierter Form) oder durch Vernebeln von Lösungen oder Suspensionen, die sie enthalten, verabreicht. Bezüglich der Zubereitungen und Darreichungsformen wird beispielsweise auf die Ausführungen im Europäischen Patent 163 965 verwiesen.

Für die Behandlung von Dermatosen erfolgt die Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen insbesondere in Form solcher Arzneimittel, die für eine topische Applikation geeignet sind. Für die Herstellung der Arzneimittel werden die erfindungsgemäßen Verbindungen (= Wirkstoffe) vorzugsweise mit geeigneten pharmazeutischen Hilfsstoffen vermischt und zu geeigneten Arzneiformulierungen weiterverarbeitet. Als geeignete Arzneiformulierungen seien beispielsweise Puder, Emulsionen, Suspensionen, Sprays, Öle, Salben, Fettsalben, Cremes, Pasten, Gele oder Lösungen genannt.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel werden nach an sich bekannten Verfahren hergestellt. Die Dosierung der Wirkstoffe bei systemischer Therapie. (p. o. oder i. v) liegt zwischen 0,1 und 10 mg pro Kilogramm und Tag.

### Biologische Untersuchungen

Die dokumentierten pathophysiologischen Effekte der Mastzell-Tryptase werden direkt durch die enzymatische Aktivität der Protease bewirkt. Dementsprechend werden sie durch Inhibitoren, die die enzymatische Aktivität der Tryptase hemmen, reduziert bzw. blockiert. Ein geeignetes Maß für die Affinität eines reversiblen Inhibitors zur Zielprotease ist die Gleichgewichts-Dissoziationskonstante  $K_i$  des Enzym-Inhibitor-Komplexes. Dieser  $K_i$ -Wert kann über den Einfluß des Inhibitors auf die Tryptase-induzierte Spaltung eines chromogenen Peptid-p-Nitroanilid-Substrates oder eines fluorogenen Peptid-Aminomethylcumarin-Substrates bestimmt werden.

### Methodik

Die Dissoziationskonstanten für die Tryptase-Inhibitor-Komplexe werden unter Gleichgewichtsbedingungen entsprechend den allgemeinen Vorschlägen von Bieth (Bieth JG, Pathophysiological Interpretation of kinetic constants of protease inhibitors, Bull. Europ. Physiopath. Resp. 16:183-195, 1980) und den Methoden von Sommerhoff et al. (Sommerhoff CP et al., A Kazal-type inhibitor of human mast cell tryptase: Isolation from the medical leech *Hirudo medicinalis*, characterization, and sequence analysis, Biol. Chem. Hoppe-Seyler 375: 685-694, 1994) bestimmt.

Menschliche Tryptase wird aus Lungengewebe rein dargestellt oder rekombinant hergestellt; die mittels Titration bestimmte spezifische Aktivität der Protease beträgt üblicherweise größer 85 % des theoretischen Wertes. Konstante Mengen der Tryptase werden in Gegenwart von Heparin (0,1-50 µg/ml) zur Stabilisierung der Protease mit aufsteigenden Mengen der Inhibitoren inkubiert. Nach Gleichgewichtseinstellung zwischen den Reaktionspartnern wird die verbleibende Enzymaktivität nach Zugabe des Peptid-p-Nitroanilid-Substrates tos-Gly-Pro-Arg-pNA bestimmt, dessen Spaltung über 3 min bei 405 nm verfolgt wird. Alternativ kann die enzymatische Restaktivität auch mit fluorogenen Substraten bestimmt werden. Die apparenten Dissoziationskonstanten  $K_{iapp}$  (d.h. in der Gegenwart von Substrat) werden anschließend durch Anpassung der Enzymgeschwindigkeiten an die allgemeine Gleichung für reversible Inhibitoren (Morrison JF, Kinetics of the reversible inhibition of enzyme-catalysed reactions by tight-binding inhibitors, Biochim. Biophys. Acta 185, 269-286, 1969) mittels nicht linearer Regression ermittelt:

$$V_i/V_0 = 1 - \{E_t + I_t + K_{iapp} - [(E_t + I_t + K_{iapp})^2 - 4E_t I_t]^{1/2}\} / 2E_t$$

Dabei sind  $V_i$  und  $V_0$  die Geschwindigkeiten in der Gegenwart bzw. Abwesenheit des Inhibitors und  $E_t$  und  $I_t$  die Konzentrationen der Tryptase und des Inhibitors.

Die für die erfindungsgemäßen Verbindungen ermittelten apparenten Dissoziationskonstanten ergeben sich aus der folgenden Tabelle A, in der die Nummern der Verbindungen den Nummern der Verbindungen in den Beispielen entsprechen.

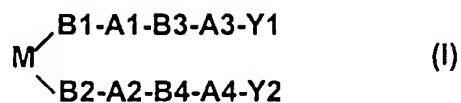
**Tabelle A**

Hemmung der humanen Tryptase

Verbindung	$K_{iapp}$ ( $\mu$ M)
1	1,6
2	2,5
3	0,2
4	0,6
5	0,018
6	0,03
7	0,18
8	2,4
9	0,01
10	0,35
11	0,07

Patentansprüche

## 1. Verbindungen der Formel I

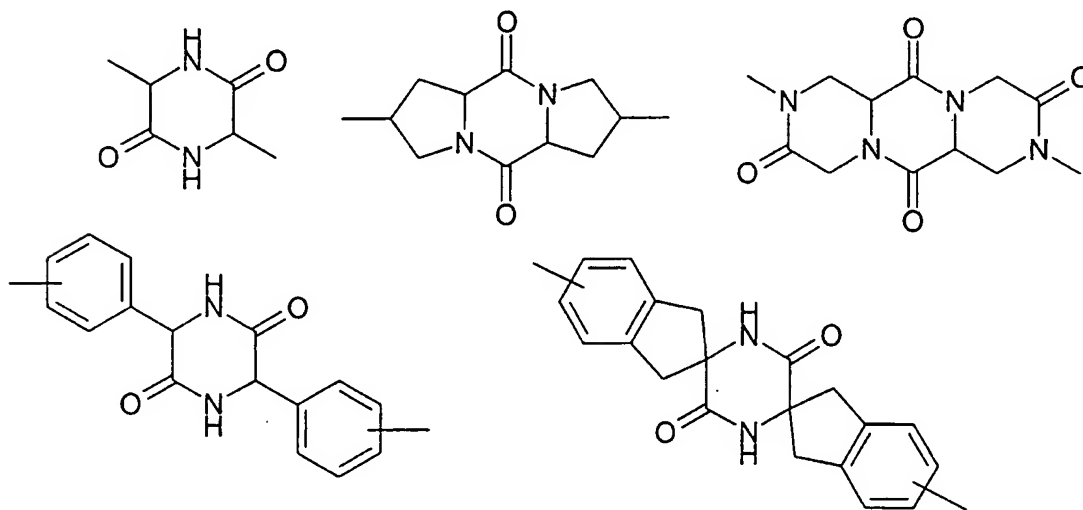


worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -S- (Schwefel), -S(O)<sub>2</sub>-NH-, -NH-S(O)<sub>2</sub>-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -C(S)-NH-, -NH-C(S)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-NH-, -NH-S(O)<sub>2</sub>- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

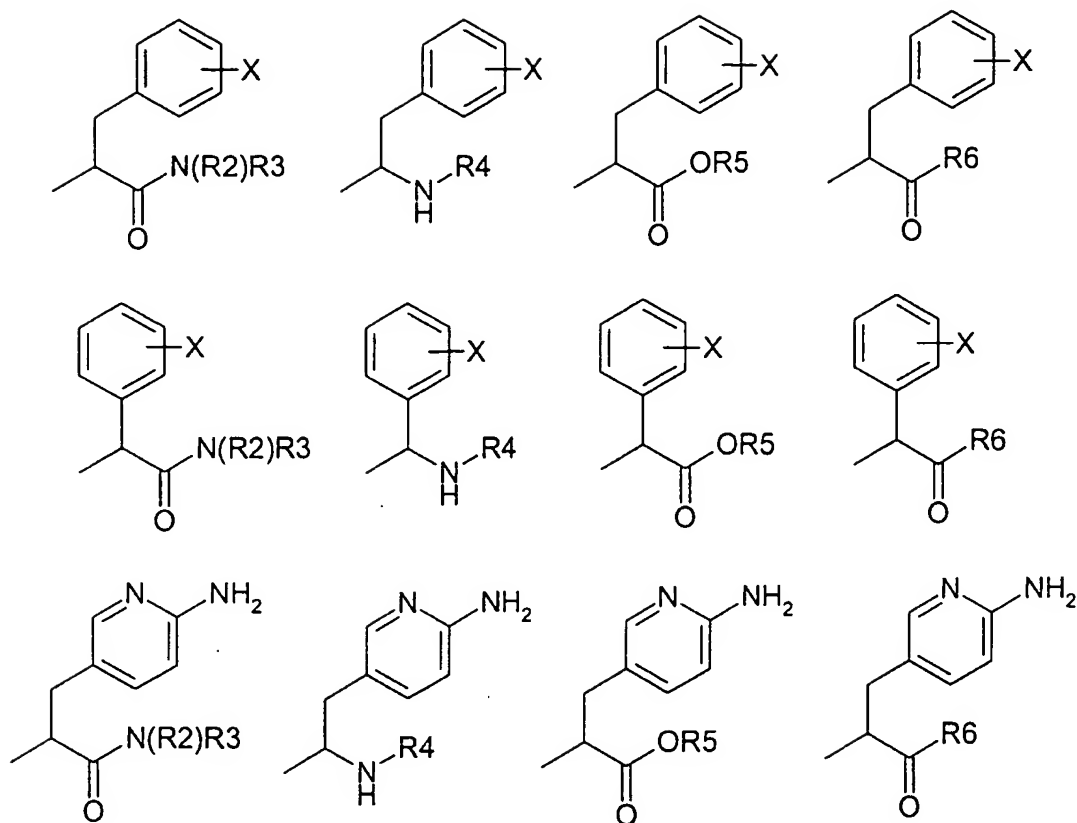


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

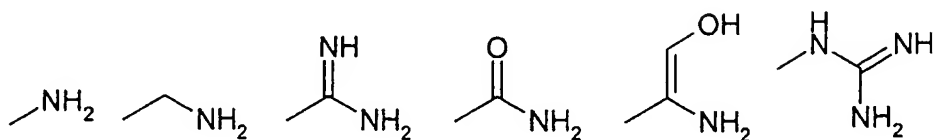
B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung, 1-4C-Alkylen oder -C(R11)R12- bedeuten, wobei R11 und R12 zusammen und unter Einschluß des Kohlenstoffatoms an das beide gebunden sind, einen spiro-verknüpften 3-, 4-, 5- oder 6-gliedrigen gesättigten Kohlenwasserstoffring darstellen,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



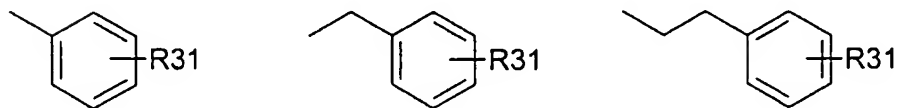
wobei

X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen

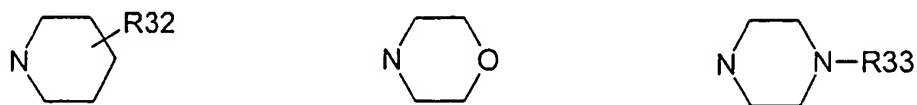


R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



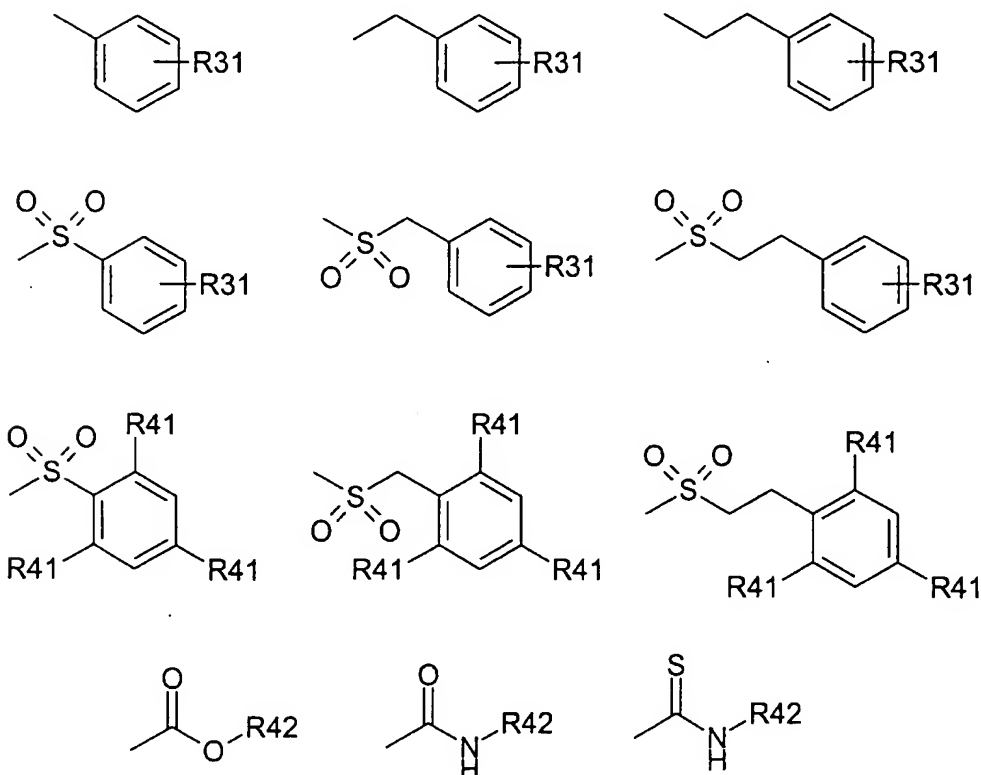
wobei

R31 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder 1-4C-Alkoxy bedeutet,

R32 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkoxycarbonyl, Phenyl-1-4C-alkoxycarbonyl, Carboxyl, Mono- oder Di-1-4C-alkylaminocarbonyl und

R33 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl, 1-4C-Alkylsulfonyl oder Hydroxymethylcarbonyl bedeuten,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl, Phenyl-1-4C-alkylcarbonyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

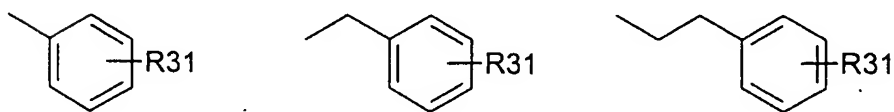


wobei

R41 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl, und

R42 1-4C-Alkyl, Adamantyl, Phenyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

R5 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellt



R6 Wasserstoff, -C(O)-OR61 oder -C(O)-NHR61 bedeutet, wobei

R61 1-4C-Alkyl oder Phenyl-1-4C-alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

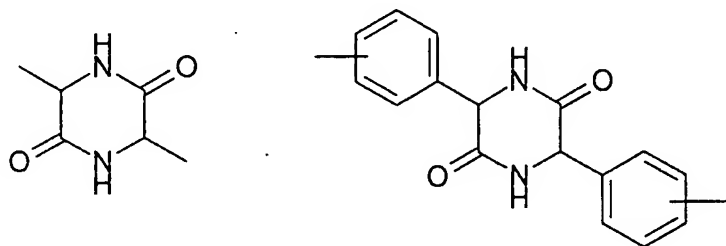
sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome, zweier Carbonylgruppen oder zweier Sulfonylgruppen kommen würde.

2. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind und -C(O)-, -NH-, -O- (Sauerstoff), -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O- oder eine Bindung bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -NH-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

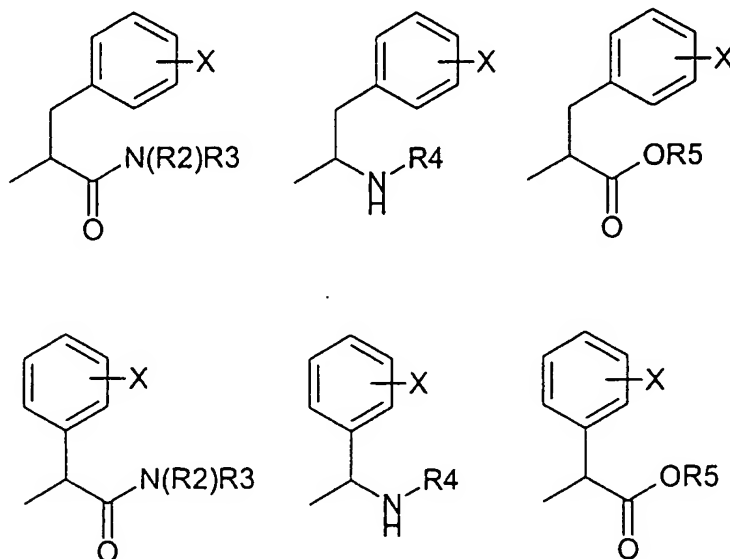


B1 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

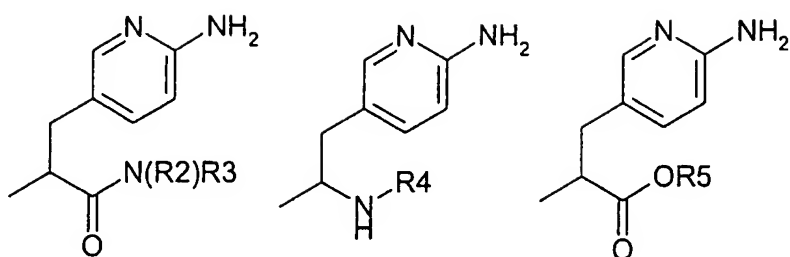
B2 eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-4C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich oder verschieden sind und eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen

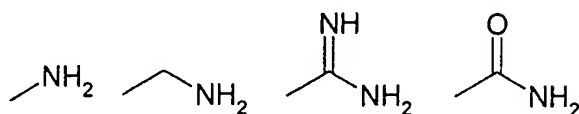






wobei

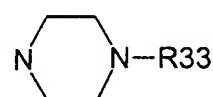
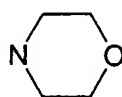
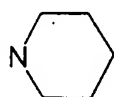
X ausgewählt ist aus einer der nachfolgenden Gruppen



R2 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R3 Wasserstoff, 1-4C-Alkyl oder Benzyl bedeutet,

oder wobei R2 und R3 zusammen und unter Einschluß des Stickstoffatoms, an das beide gebunden sind eine Gruppe aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



wobei

R33 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

R4 1-4C-Alkylcarbonyl bedeutet,

R5 Wasserstoff oder 1-4C-Alkyl bedeutet,

und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

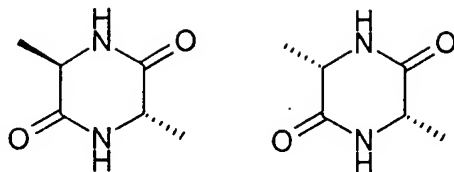
sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder mehrere der Variablen B1, B2, B3 oder B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Heteroatome oder zweier Carbonylgruppen kommen würde.

3. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NH-C(O)- bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

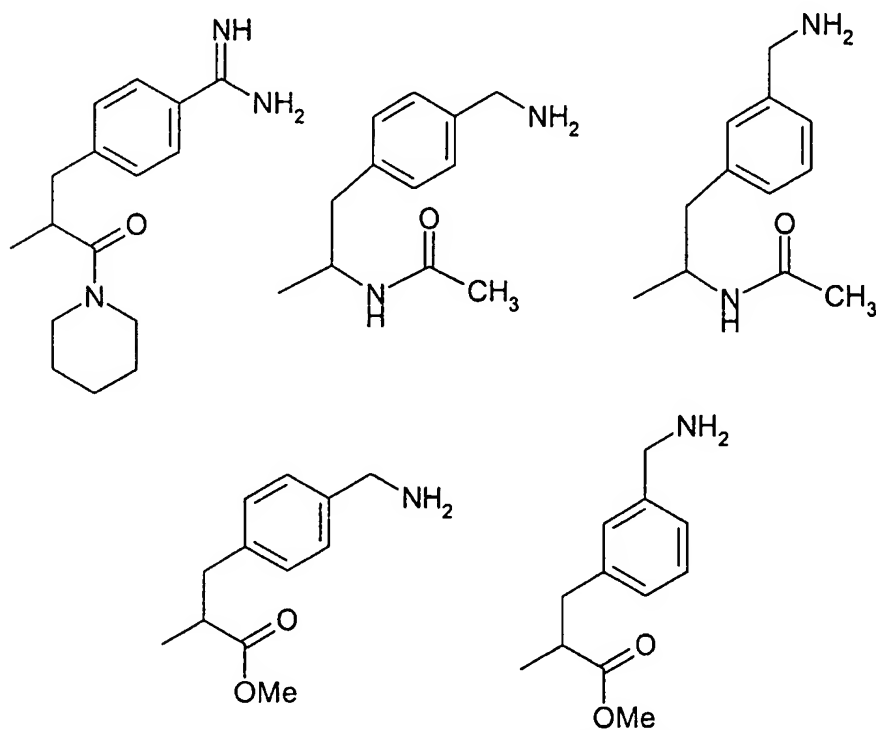


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-3C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40, bevorzugt 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

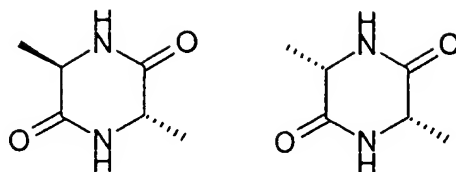
sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

4. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin

A1 und A2 gleich oder verschieden sind -C(O)-NH- oder -NH-C(O)- bedeuten,

A3 und A4 gleich oder verschieden sind und -C(O)-NH- oder eine Bindung bedeuten,

M einen Diketopiperazinbaustein ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellt

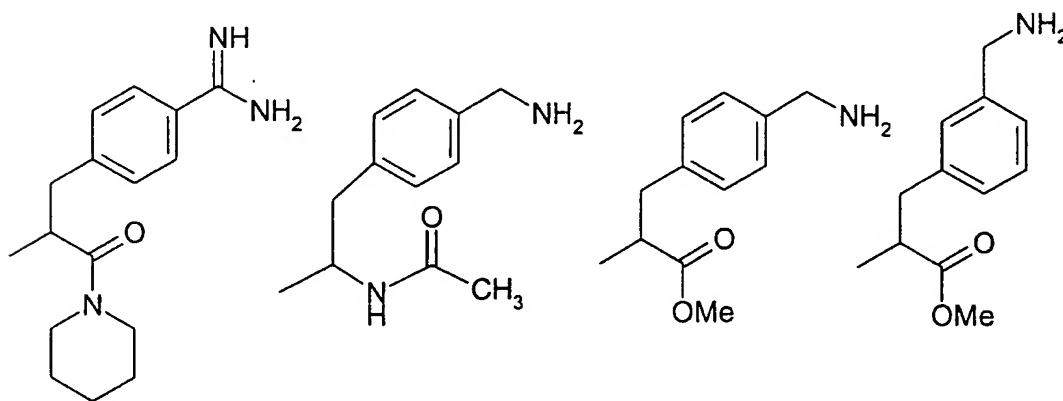


B1 1-4C-Alkylen bedeutet,

B2 1-4C-Alkylen bedeutet,

B3 und B4 gleich oder verschieden sind und eine Bindung oder 1-2C-Alkylen bedeuten,

Y1 und Y2 gleich sind und eine Gruppe ausgewählt aus der nachfolgenden Übersicht darstellen



und worin auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 20 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen,

sowie die Salze dieser Verbindungen, wobei alle diejenigen Verbindungen ausgeschlossen sind, bei denen eine oder beide Variablen B3 und B4 die Bedeutung einer Bindung annehmen und es dadurch zur direkten Verknüpfung zweier Carbonylgruppen kommen würde.

5. Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß auf direktem Weg zwischen den terminalen Stickstoffatomen 25 bis 40 Bindungen vorhanden sein müssen.

6. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 mit der chemischen Bezeichnung

(3S,6S)-3,6-Di-(4-{3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino}-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-[4-[2-acetylamino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6R)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;

(3S,6S)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-6-[2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-[2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-([2-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-ethylcarbamoyl]-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-([3-[2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonyl-ethylcarbamoyl]-propylcarbamoyl]-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin und  
(3S,6S)-3,6-Di-[4-[3-(3-aminomethylphenyl)-2-acetyl-amino-propanoylamino]-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin,  
sowie die Salze dieser Verbindungen.

7. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 mit der chemischen Bezeichnung

(3S,6S)-3,6-Di-(4-[3-[1-(4-carbamimidoylbenzyl)-2-oxo-2-piperidinethylcarbamoyl]-propanoylamino]-butyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6S)-3,6-Di-[4-[2-acetyl-amino-3-(4-aminomethylphenyl)-propanoylamino]-butyl]-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6S)-3,6-Di-([2-(4-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
(3S,6R)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin und  
(3S,6S)-3,6-Di-([2-(3-aminomethylphenyl)-1-methoxycarbonylethylcarbamoyl]-methylcarbamoyl)-methyl)-1,4H-2,5-dioxopiperazin;  
sowie die Salze dieser Verbindungen.

8. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 zur Behandlung von Krankheiten.

9. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 zur Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Atemwegserkrankungen.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/EP 00/07707

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D241/08 C07K5/02 C07D487/14 A61K31/495 A61P11/00  
C07D401/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D C07K A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 17985 A (SMITHKLINE) 22 May 1997 (1997-05-22) page 3 -page 19 ---	1,8,9
A	FR 2 717 484 A (PIERRE FABRE) 22 September 1995 (1995-09-22) page 17 -page 20; claims ---	1,8,9
A	US 5 693 338 A (SAM J. MILSTEIN) 2 December 1997 (1997-12-02) column 1 -column 26 --- -/--	1,8,9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 December 2000

Date of mailing of the international search report

14/12/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Francois, J

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Patent Application No

PCT/EP 00/07707

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>R.J. BERGERON ET AL.: "MACROMOLECULAR SELF-ASSEMBLY OF DIKETOPIPERAZINE TETRAPEPTIDE."  JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY.,  vol. 116, no. 19, 1994, pages 8479-84,  XP000601671  AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON,  DC., US  ISSN: 0002-7863  page 8479 -page 8484; examples 3D-G,4D-G;  tables SCHEM.,2</p> <p>-----</p>	1,8,9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/07707

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9717985	A	22-05-1997	EP 0874638 A	04-11-1998
			JP 2000500461 T	18-01-2000
<hr/>				
FR 2717484	A	22-09-1995	NONE	
<hr/>				
US 5693338	A	02-12-1997	AU 4129396 A	19-04-1996
			WO 9609813 A	04-04-1996
			US 5714167 A	03-02-1998
			US 6099856 A	08-08-2000
			US 5976569 A	02-11-1999
			US 6071538 A	06-06-2000
<hr/>				

# INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/07707

## A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07D241/08 C07K5/02 C07D487/14 A61K31/495 A61P11/00  
C07D401/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D C07K A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 97 17985 A (SMITHKLINE) 22. Mai 1997 (1997-05-22) Seite 3 -Seite 19 ---	1,8,9
A	FR 2 717 484 A (PIERRE FABRE) 22. September 1995 (1995-09-22) Seite 17 -Seite 20; Ansprüche ---	1,8,9
A	US 5 693 338 A (SAM J. MILSTEIN) 2. Dezember 1997 (1997-12-02) Spalte 1 -Spalte 26 ---	1,8,9
	---	
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

1. Dezember 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

14/12/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Francois, J



## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>R.J. BERGERON ET AL.: "MACROMOLECULAR SELF-ASSEMBLY OF DIKETOPIPERAZINE TETRAPEPTIDE." JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., Bd. 116, Nr. 19, 1994, Seiten 8479-84, XP000601671 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC., US ISSN: 0002-7863 Seite 8479 -Seite 8484; Beispiele 3D-G,4D-G; Tabellen SCHEM.,2 -----</p>	1,8,9

# INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/07707

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9717985 A	22-05-1997	EP 0874638 A JP 2000500461 T	04-11-1998 18-01-2000
FR 2717484 A	22-09-1995	KEINE	
US 5693338 A	02-12-1997	AU 4129396 A WO 9609813 A US 5714167 A US 6099856 A US 5976569 A US 6071538 A	19-04-1996 04-04-1996 03-02-1998 08-08-2000 02-11-1999 06-06-2000